

No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología

S. Prentis

16





Biotecnología

Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca
Científica
Salvat




Biotecnología

Biblioteca
Científica
Salvat

EX LIBRIS Scan Digit



The Doctor

Biotecnología

Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Edición actualizada por

Pere Puigdomènech Rosell
Profesor investigador del CSIC

Luis Ruiz Ávila
Profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona

SALVAT

Versión española de la obra original en inglés *Biotechnology: A New Industrial Revolution* publicada por Orbis Publishing Limited de Londres

Traducción: Josep Cuello
Diseño de cubierta: Ferran Cartes / Montse Plass

© 1993 Salvat Editores, S.A., Barcelona
© Steve Prentis
ISBN: 84-345-8880-3 (Obra completa)
ISBN: 84-345-8896-X (Volumen 16)
Depósito Legal: B-33633-1993
Publicada por Salvat Editores, S.A., Barcelona
Impresa por Printer, i.g.s.a., Octubre 1993
Printed in Spain

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS

Debo dar las gracias a los muchos biotecnólogos que han dedicado su tiempo a discutir acerca de su trabajo y de sus repercusiones. En particular, estoy especialmente agradecido a las siguientes personas por la lectura de diversos capítulos de mi original y por haberme ofrecido sus comentarios al respecto: profesor Tony Atkinson, del Centre for Applied Microbiology and Research; doctor Norman Cohen, de la Open University; profesor Howard Dalton, de la University of Warwick, y profesor Alan Williamson, del Glaxo Group Research. Me han ayudado, en una forma que no tiene precio, en la presentación de los aspectos técnicos de una manera —espero— comprensible para un gran público. Sin embargo, cualquier simplificación excesiva o cualquier imprecisión que pueda existir es, por descontado, exclusivamente de mi responsabilidad. Finalmente, debo expresar mi gratitud al doctor Harmke Kamminga, del Birkbeck College de la University of London, por su constante estímulo y por su paciencia en el comentario de diversos temas del original.

El autor y el editor también están agradecidos a las siguientes personas o entidades por haber facilitado los clichés que se indican: Beecham Pharmaceuticals Research Division, 4, 5; Biological Photo Service, 1; profesor Ovio Ciferri, 9; Department of the Navy, David W. Taylor, Naval Ship Research and Development Center, 10; Glaxo, 6; por gentileza de Kennecott, 14; Marc van Montagu, 8; Nova, 2; Science Photo Library/K. Sikora, 11; Carl E. Shively, Alfred University, 13; Stanford University Medical Center, 3; VAG (Reino Unido) Ltd., 12; J. W. Watts, John Innes Institute, 7.

La figura 4 del capítulo VIII se reproduce con permiso del doctor M. Gronow y de Elsevier Publications.

PRÓLOGO A LA TERCERA EDICIÓN

La presente edición de «Biotecnología» se ha realizado tras la muerte de su autor, Steve Prentis. Durante los años transcurridos desde la última edición, esta rama de la biología ha seguido desarrollándose a buen ritmo, y por esta razón ha sido necesario añadirle al texto algunos apartados sobre nuevas técnicas (como la *PCR*, por ejemplo), nuevos logros (como los organismos *transgénicos*) o nuevas líneas de investigación (como la obtención del «mapa génico» de todo el organismo humano).

Pero, al revisar el libro, hemos quedado gratamente sorprendidos por el acierto con que en general Prentis previó el futuro de la biotecnología, de modo que sólo hemos tenido que retocar el texto en unos pocos lugares.

En cuanto al estado actual de esta ciencia aplicada, podríamos calificarlo como de asentamiento definitivo e investigación acelerada. Algunas predicciones excesivamente optimistas han tenido que revisarse, pero no hay duda de que quienes dudaban de la utilidad de la biotecnología han tenido también que revisar sus críticas. En muchos campos (farmacología, industria agroalimentaria) la biotecnología está siendo ya un buen negocio, aunque quizá no tan rápido como algunos esperaban. Ninguno de los posibles riesgos que se habían predicho en sus aplicaciones se han confirmado, quizá en parte por la precaución con que se ha trabajado.

Pero sus incursiones en terrenos que podrían afectar de raíz la misma naturaleza de la vida o del ser humano hace que debamos estar atentos a las repercusiones de esta fabulosa panoplia de herramientas tecnológicas en los campos de lo político, lo social y lo ético.

PERE PUIGDOMÈNECH ROSELL
LUIS RUIZ ÁVILA

INTRODUCCIÓN

¿Quién se molestará en fabricar un producto químico cuando pueda hacerlo un microbio?

J. B. S. HALDANE, 1929

Hace algo más de sesenta años, uno de los científicos más perspicaces de su época manifestaba así la lógica inherente a lo que ahora se denomina biotecnología. Muy recientemente, el término biotecnología ha rebasado los ámbitos de un reducido grupo de laboratorios de investigación. En este libro se describen los descubrimientos científicos y técnicos que han conducido a los umbrales de una nueva revolución industrial: la revolución bioindustrial. La miríada de posibilidades de la biotecnología son incluso mayores que las de los circuitos integrados en electrónica. Los «chips» son esencialmente dispositivos para tratar información, mientras que la biotecnología puede producir materiales, desde combustibles a medicinas, desde alimentos a vacunas, desde productos químicos a plásticos.

El actual y espectacular desarrollo de la biotecnología ha puesto en movimiento a corredores de bolsa y directivos de la industria, ha ilusionado a los políticos con la esperanza de nuevas fuentes de prosperidad y ha inspirado a los periodistas escritos acerca de la «curación del cáncer». Sin embargo, el meollo de la historia de la biotecnología no se desarrolla alrededor de tales personajes ni tampoco de aquellos científicos cuyo genio les ha merecido el premio Nobel. Los verdaderos protagonistas de la biotecnología sólo se pueden ver con ayuda del microscopio: son los diminutísimos microbios y las células procedentes de plantas y animales.

Las aptitudes innatas de las diminutísimas células vivas son en

extremo asombrosas. Millones de años de evolución las han dotado de una sorprendente capacidad de adaptación. Los microbios se encuentran virtualmente en todas partes, en el agua hirviente, incrustados en el hielo, inmersos en el petróleo. Algunos pueden alimentarse de materiales en apariencia poco nutritivos, como el petróleo, la madera, el plástico e incluso rocas sólidas. Cuando, además, se examinan las sustancias que los microbios son capaces de manufacturar, empiezan a revelarse las inmensas posibilidades de la biotecnología. Antibióticos, insecticidas, combustibles, colorantes, productos industriales y vitaminas constituyen tan sólo una pequeña parte de los muchísimos y valiosos materiales que pueden obtenerse a partir de los microbios.

Estos hechos justificarían de por sí el gran interés que despierta el desarrollo de nuevas industrias que emplearán la fuerza de trabajo de millones de microbios manufacturando solícitamente las sustancias que se necesiten. Pero la expansión de la biotecnología se ha producido con el advenimiento de la ingeniería genética. hace apenas un decenio que los científicos descubrieron por vez primera que eran capaces de introducir piezas externas de información genética en los microbios. Los logros de la ingeniería genética dan un nuevo sentido a las palabras de Haldane: «si no eres capaz de encontrar un microbio que produzca lo que quieras, ¡créalo!».

En los laboratorios de investigación esparcidos por el mundo, los ingenieros genéticos han obtenido ya microbios capaces de elaborar docenas de sustancias muy valiosas. Por ejemplo, los diabéticos de todo el mundo ya utilizan insulina producida por microbios manipulados genéticamente, y la hormona del crecimiento, que permite tratar una de las principales causas del enanismo, se obtiene también de microbios a los que se ha introducido artificialmente el gen que permite su producción. Otros productos de gran aplicación médica, como las linfocinas, el interferón, los factores de coagulación sanguínea, el activador tisular del plasminógeno (importante para el tratamiento de ciertos tipos de crisis cardíacas) y la eritropoyetina (utilizada para el tratamiento de anemias producidas por diálisis renal) se obtienen también en grandes cantidades a partir de cultivos de microbios manipulados genéticamente. Estos productos fueron los pioneros de la industria de la ingeniería genética. A ellos han seguido un lote de productos médicos entre los que se incluyen medicamentos para el tratamiento de golpes, quemaduras y lesiones nerviosas, y un buen número de vacunas entre las que cabe destacar la vacuna contra la hepatitis B y una vacuna contra la malaria que se encuentra en estos momentos en la fase de prueba clínica. Con todas estas realidades y posibilidades médicas en el horizonte, así como con la producción de combustibles y de productos químicos para la industria, no sorprende que la ingeniería genética haya acaparado la parte del león de los titulares y cabeceras de página de los últimos años. Pero otros extraordinarios avances de la biología influirán igualmente en la revolución industrial. El cultivo de tejidos —cultivo de fragmentos de plantas o de animales en el laboratorio— ha abierto incontables e interesantísimas posibilidades. La repercusión de estas investigaciones en el cultivo de células vegetales puede posibilitar a los mejoradores de vegetales la creación de nuevos cultivos que crezcan más rápidamente, requieran menos fertilizantes y arraiguen en peores suelos. Los anticuerpos monoclonales y las moléculas marcadoras elaboradas por los leucocitos ya han empezado a revolucionar el diagnóstico clínico. La fusión de dichas técnicas con las de la ingeniería genética monoclonales ha permitido diseñar moléculas híbridas, que combinan la elevada capacidad de discernimiento de los anticuerpos con alguna actividad enzimática para generar auténticas «balas mágicas» (en la mejor tradición microbiológica de Paul Ehrlich) capaces de detener la proliferación de algunos tumores. Finalmente, del desarrollo de la tecnología de obtención de animales transgénicos, es decir, la posibilidad de introducir en cualquier animal el gen que se desee, abre diversas vías paralelas para combatir numerosas enfermedades que afectan a los seres humanos: la creación de animales que desarrollen artificialmente las enfermedades que se desea estudiar, como la diabetes o el cáncer, y que de esta forma sirvan de modelo para el estudio de causas y soluciones; la obtención de animales que puedan servir como fuente de trasplante de órganos a los seres humanos; y, finalmente, la posibilidad de atacar la raíz misma de las enfermedades hereditarias mediante terapia génica, es decir, sustituyendo los genes defectuosos por genes funcionales.

De la misma manera que esta avalancha de nuevas industrias biológicas basadas en los descubrimientos científicos del último

decenio, el pasado y el presente de la biotecnología han cosechado numerosos triunfos. El florecimiento de la industria microbiológica de antibióticos ha salvado incontables millones de vidas. El hombre, sin embargo, utiliza los microbios desde hace milenios. Una refacción de pan, queso y cerveza sólo es posible merced a la actividad de los microbios, que convierten la leche en queso, producen gases para fabricar el pan y transforman el azúcar de la cebada en alcohol. Hasta hace poco tiempo, la utilización de los microbios era una cuestión muy empírica, pues se carecía de los conocimientos necesarios para comprender el mundo microscópico y las posibilidades de modificarlo en provecho del hombre. Ahora, los esfuerzos de cientos de científicos y técnicos los han estructurado ampliamente, de modo que gran cantidad de atractivas perspectivas procedentes de la biotecnología se encuentran en casi todos los campos de la vida moderna:

En medicina

Nuevos y mejores tratamientos para las tres mayores causas de mortalidad en los países desarrollados: enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes.

Mejores y más baratos antibióticos para luchar contra la proliferación de organismos infecciosos que han desarrollado resistencia a los antibióticos usuales.

Vacunas contra los agentes de enfermedades víricas, tales como la hepatitis, la gripe y la hidrofobia y también contra las enfermedades parasitarias, incluidas la malaria y la enfermedad del sueño que afectan a millones de personas anualmente.

Análisis rápidos que permitan al médico efectuar diagnósticos precisos de numerosas enfermedades.

Métodos mejores para el trasplante de órganos.

Técnicas para corregir procesos bioquímicos corporales y para curar las enfermedades hereditarias, como la hemofilia, las que afectan a los «niños burbuja» o el síndrome de Lesch-Nyham.

En la agricultura y producción de alimentos

Creación de cultivos que produzcan sus propios fertilizantes con el consiguiente inmenso ahorro para el cultivador.

Plantas que puedan prosperar en suelos actualmente improductivos bien por sequedad o bien por su exceso de sales.

Plantas resistentes a parásitos o a insectos y a tratamientos con herbicidas.

Plantas que producen frutos con maduración controlada o con contenido modificado en grasas o azúcares.

Animales productores de hormonas o con un contenido modificado de grasa.

Sustancias capaces de acelerar el crecimiento de los animales de granja.

Vacunas contra las infecciones del ganado.

Formas más baratas de alimentos para los animales, compuestos por microorganismos cultivados en materias de desecho.

En la producción de energía

Combustibles renovables, incluidos metano e hidrógeno, y alcohol combustible para usos domésticos e industriales.

Sustancias elaboradas por microorganismos, los cuales ayudarán a extraer los combustibles del subsuelo.

En la industria

Nuevas fuentes de productos fundamentales para la fabricación de plásticos, pinturas, fibras artificiales y adhesivos.

Microbios que puedan extraer metales de rocas sólidas.

Nuevos sistemas de control de la contaminación.

En la lista anterior se relacionan únicamente algunos de los beneficios que la biotecnología puede aportar. No está fuera de razón que se considere a los profetas de las nuevas técnicas con un sano escepticismo ante el anuncio de la llegada de la era del «biohit» y muchos de sus extravagantes sueños, que se convertirán en realidad en el futuro de la biotecnología. Tal hinchazón es necia pero también innecesaria, ya que las expectativas reales de la revolución bioindustrial son lo suficientemente imprevisibles como para cautivar la atención de quien quiera saber cómo cambiará el mundo en los próximos años.

Este libro se centra en lo posible y en lo actual. Muchos de los procesos biotecnológicos y productos antes mencionados se han puesto en práctica. Algunos constituyen la base de grandes industrias productoras de medicamentos, alimentos o bebidas o que combaten la contaminación ambiental. Otros están presentes en operaciones en pequeña escala en el laboratorio y dentro de poco tiempo tendrán una significativa repercusión en la salud del hombre, la agricultura, las fuentes de energía o la industria.

Algunos de los hitos del pasado de la biotecnología y algunas de las metas de su futuro se relacionan en la tabla del final de este capítulo. El brillo de las ganancias ha atraído naturalmente a los analistas industriales y a los financieros, así como una retahíla de investigaciones patrocinadas por el gobierno. Las cifras de negocio que se barajan explican por qué los actuales gigantes de la industria se muestran deseosos de asegurarse posiciones en la biotecnología. Se trata de algo más que de los sueños de unos pocos científicos cuando las inversiones proceden de compañías como Shell, Exxon, ICI, Glaxo, Grand Metropolitan, Standard Oil, Unilever, Allied Lyons, Cadbury Schweppes y Rank Hovis McDougall.

Biotecnología, como muchas otras palabras nuevas, tiene distintos significados según las personas. Algunas definiciones son tan generales que incluyen la agricultura tradicional y la práctica ganadera. Por otro lado, algunos puntos de vista populares que identifican la biotecnología con la ingeniería genética ignoran otras muchas facetas y técnicas prometedoras en extremo atractivas ya existentes en la actualidad y que permiten aplicar los conocimientos biológicos.

El rasgo esencial de la biotecnología, tal como se define aquí, es que utiliza microorganismos o células obtenidas de animales o plantas, pero excluye aquellas actividades que comportan plantas o animales completos, como, por ejemplo, el cultivo del trigo o la cría de ganado. Los microorganismos se suelen cultivar, en condiciones controladas, en grandes contenedores, a veces inmensos depósitos metálicos de 100.000 litros de capacidad o más. Cuando a tales microorganismos se les proporcionan los nutrientes adecuados pueden crecer muy rápidamente. El peso total de los microbios contenidos en un recipiente puede doblarse, por lo menos, en 20 minutos, por lo cual pueden obtenerse inmensas cantidades

de microorganismos de un modo relativamente fácil, a partir de pocos organismos. En algunas ocasiones, la finalidad del biotecnólogo estriba en producir cuantos más mejor y al menor coste posible. Dicha biomasa se utiliza ampliamente como aporte alimenticio para el ganado de granja y, en algunos lugares del mundo, como alimento humano.

Muchos de los nuevos procesos biotecnológicos son, sin embargo, mucho más complicados. En este caso, la finalidad se cifra en la cosecha de determinados materiales valiosos producidos por el microorganismo, entre los cuales se incluyen antibióticos, combustibles y una enorme gama de productos químicos para la industria. Pero existen muchos materiales valiosísimos que los microorganismos, a pesar de su gran adaptabilidad, no producen de manera natural y aquí entra en acción la ingeniería genética. Las posibilidades de la ingeniería genética apenas tienen fronteras y cuando en el decenio de 1970 se hizo patente su espantoso poder se planteó la cuestión de la prudencia y la seguridad necesarias en esta especie de «manipulación de la naturaleza» tan fundamental, por cuanto se trata de alterar la auténtica genética de los organismos. Fueron conjuradas las visiones alarmistas acerca de mutantes «microbios asesinos». Los científicos participantes en este tipo de investigaciones fueron los primeros en plantear sus posibles peligros y rápidamente se estableció un animado debate público en todo el mundo. El recuerdo de las pasiones que suscitó permanece en la mente de muchos, pero no es propósito de este libro entrar en los complejos detalles de aquellas argumentaciones. En el capítulo final se examina con brevedad alguna nueva información que se ha producido recientemente, la cual resulta muy convincente para la mayoría de los científicos —y para todos los que tengan ocasión de examinar su obra— acerca de que los peligros originariamente previstos no existen en realidad.

En la actualidad, a medida que la revolución bioindustrial adquiere auge surgen otras preguntas de inmenso significado y que conciernen a las rutas que seguirá la biotecnología en el futuro. ¿Se dedicará más atención a la mejora de la salud de los habitantes de los países desarrollados y poca, en cambio, a las enfermedades inmensamente más graves de los países en vías de desarrollo? ¿Se incrementarán las aportaciones de combustible únicamente dismi-

nuyendo los recursos alimenticios? ¿Perderán algunas naciones el tren de la industria biológica y, si es así, en qué media quedarán afectadas sus economías? ¿De qué manera se pueden guiar la investigación y el desarrollo hacia un óptimo que asegure que la biotecnología produzca sus mejores resultados?

Al igual que en los primeros días de la revolución del microchip, la posible repercusión social y económica de las nuevas técnicas sólo se puede estimar si se comprenden los principios en que se fundamentan y sus aplicaciones. Por ello, en la mayor parte de este libro se presentan ejemplos de cómo la biotecnología ya ha afectado a la vida del hombre y acerca de la manera en que su influencia será más notoria en los dos decenios próximos, con el objeto de proporcionar a los lectores la información que necesitan para evaluar la amplitud de las ramificaciones que la biotecnología va desplegando.

Especulaciones demasiado optimistas han atizado la euforia de esta tecnología y la excitación de los titulares. Por fortuna, se ha impuesto un sano realismo y parecen contados los días del «bio-hit». Claramente, la biotecnología no es un rótulo de moda para los experimentos de laboratorio interesantes ni tampoco la llave para inmensos e instantáneos beneficios. La biotecnología sobrevivirá y prosperará tomando los conocimientos adquiridos en numerosos campos de la ciencia y la técnica y aplicándolos a procesos prácticos.

Los problemas con que actualmente tendrán que enfrentarse los biotecnólogos son a veces complejos pero siempre interesantes. El extraordinario progreso efectuado en la consecución de resultados en muchos casos —y las grandes recompensas que el éxito comporta— hacen de la biotecnología uno de los más destacados y fascinantes empeños del último cuarto de este siglo.

Hitos de la biotecnología

Empleo de levaduras para la fabricación de vino y cerveza	antes del 6000 aC
Pan fermentado producido con ayuda de levaduras	aproximadamente 4000 aC
Se beneficia el cobre con ayuda de microorganismos, en Río Tinto (España)	antes de 1670
Antoni van Leeuwenhoek observa por vez primera los microorganismos con ayuda de su microscopio	1680
Louis Pasteur reconoce unos microorganismos extraños como causa de las perturbaciones de la fermentación de la cerveza	1876
Se utiliza por primera vez el alcohol como combustible de motores	aproximadamente en 1890
Eduard Buchner descubre que los enzimas extraídos de la levadura pueden convertir el azúcar en alcohol	1897
Se establecen sistemas de purificación, en gran escala, de las aguas residuales empleando microorganismos	aproximadamente en 1910
Se obtienen tres importantes productos químicos (acetona, butanol y glicerina) a partir de microorganismos	1912-1914
Alexander Fleming descubre la penicilina	1928
Empieza la producción de penicilina en gran escala	1944
Se descubre la estructura en doble hélice del ADN	1953
Se introducen antibióticos nuevos	decenio de 1950
Comienza en Canadá la extracción del uranio con ayuda de microorganismos	1962
El gobierno del Brasil inicia un vasto programa para sustituir el petróleo por alcohol	1973
Se patenta una técnica para recombi-	

nar genes, iniciándose así la biotecnología moderna	1973
Se obtienen por vez primera los hibridomas que producen anticuerpos monoclonales	1975
Se discuten y perfilan en los Estados Unidos de América las normas de conducta respecto a la ingeniería genética	1975
Se funda en EE.UU. Genentech, la primera empresa de ingeniería genética	1976
Se identifica por vez primera un gen causante de cáncer	1976
Mediante técnicas de ADN recombinante, se fabrica con éxito una hormona humana en una bacteria	1977
Se desarrolla un método para determinar con rapidez la secuencia de bases de una molécula de ADN	1977
Se clona el gen de la insulina humana	1978
El Tribunal Supremo de los Estados Unidos dictamina que se pueden patentar los microbios obtenidos mediante ingeniería genética	1980
Se permite, en los Estados Unidos, inyectar anticuerpos monoclonales con finalidades de diagnóstico	1981
En los Estados Unidos y el Reino Unido se autoriza que la insulina obtenida con ingeniería genética se pueda utilizar en el tratamiento de la diabetes humana	1982
Obtención del primer ratón transgénico	1982
Invención de la técnica PCR, que permite replicar genes específicos con gran rapidez	1983
Obtención de las primeras plantas transgénicas	1984
Se inicia el empleo de interferones en el tratamiento de enfermedades víricas	1985
Se utiliza por primera vez la «huella genética» en una investigación judicial en Gran Bretaña	1985
Se autorizan las pruebas clínicas de la vacuna contra la hepatitis B obtenida mediante ingeniería genética	1986
Comercialización del primer anticuerpo monoclonal de uso terapéutico	1987
Se pone en marcha a escala internacional el *Proyecto Genoma,* cuyo objetivo final es obtener la secuencia completa de los 3.000 millones de pares de bases que componen el genoma humano	1988
Comercialización de las primeras máquinas automáticas de secuenciación de ADN	1989
Primer tratamiento con éxito mediante terapia génica en niños con transtornos inmunológicos («niños burbuja»)	1990
Se concede el premio Nobel de Química a K. B. Mullis, por el desarrollo de la técnica PCR, y a M. Smith, por la invención de la mutagénesis puntual dirigida.	1993

Perspectivas inmediatas

Obtención de vacunas eficaces contra la malaria y el sida. Comercialización de plantas y animales transgénicos. Utilización de anticuerpos monoclonales para guiar medicamentos anticancerosos hacia los tejidos malignos.

Objetivos para el fin de siglo

Aplicación clínica generalizada de la terapia génica. Uso desondas de ADN para el pronóstico de enfermedades cardiovasculares, tumorales y mentales. Secuenciación completa del genoma humano. Utilización generalizada de cepas de plantas y animales transgénicos en agricultura y ganadería. Vacunas de síntesis para las principales enfermedades víricas.

I. LA QUÍMICA DE LA VIDA Y LA CLAVE DE LA BIOTECNOLOGÍA

El término biotecnología comprende numerosas actividades que tienen en común el que en todas se aprovechan o dirigen las facultades primordiales de los seres vivos. Para comprender de qué modo se puede hacerlos trabajar y lo que es capaz de realizar la biotecnología tiene suma importancia el que se esté familiarizado con los principios fundamentales de la química de la vida y en particular con la estructura y la función de las proteínas, así como con las del material genético, el ADN.

Uno de los mayores logros de la ciencia es el cúmulo de conocimientos alcanzados acerca de la composición química de los organismos y sobre la manera en que tales compuestos reaccionan entre sí para desencadenar el fenómeno identificado como vida. Probablemente el más poderoso ímpetu que jamás haya recibido la investigación biológica fue la aceptación definitiva, durante el siglo pasado, de que resulta fútil buscar las «fuerzas vitales» que distinguen los organismos vivos de la materia inanimada. La especial naturaleza de los seres vivos no la confieren los principios químicos sino más bien la manera inmensamente compleja en que utilizan las leyes ordinarias de la química.

A menudo se comparan los organismos con fábricas. El acierto de esta analogía estriba en que destaca la naturaleza química de la vida, en que el crecimiento, el desarrollo y la reproducción dependan de reacciones químicas. Tal analogía, sin embargo, no aclara algunas características esenciales de los seres vivos y muchas de ellas tienen decisiva importancia para la biotecnología.

Quizás el rasgo más notable de los organismos vivos es la consumada diversidad de procesos químicos que desarrollan. La mayor parte de las industrias químicas están ideadas para convertir ciertos

materiales fundamentales en algunos productos finales. Por evolución, los organismos poseen la facultad de tomar una amplia diversidad de materias básicas (nutrientes) y transformarlos, literalmente, en millares de distintos tipos de materiales, cada uno con determinada función biológica. Las posibilidades de la biotecnología residen en estas poderosas «disposiciones» químicas, desarrolladas en el transcurso de miles de millones de años de evolución.

LA ARQUITECTURA DE LA VIDA

Hay en el mundo una asombrosa diversidad de formas vivientes, e incluso cuando se profundiza en ello se descubre que los millones de especies que lo pueblan tienen en común muchos caracteres. La célula es la unidad básica de la organización biológica. Las plantas y los animales están formados por células, envueltas cada una por una o más membranas. Las células son pequeñísimas: se requieren 5.000 para formar el punto de la letra i.

Las plantas y los animales corrientes están compuestos por cifras astronómicas de células —en el cuerpo humano, por ejemplo, hay alrededor de cien mil millones de células. En tales organismos pluricelulares existen centenares de tipos distintos de células, con diferentes funciones específicas: algunas células del ojo son sensibles a la luz, las células musculares proporcionan la fuerza para el movimiento, etc. La especialización de las células es una característica distintiva de los organismos avanzados. Los diferentes tipos de células contribuyen al bienestar del organismo en conjunto y cada uno de ellos depende de los demás para su supervivencia.

Por el contrario, la mayor parte de los organismos que interesan a los biotecnólogos —los microorganismos— constan de una célula única. Toda célula es una entidad independiente que puede realizar todas las funciones necesarias para mantenerse viva y, por tanto, para reproducirse. De este modo y para estos seres, los términos «célula» y «organismo» son sinónimos (fig. 1-1 y lámina 1).

El mundo de los microorganismos comprende varios tipos distintos de organismos. Tres grupos adquieren especial importancia

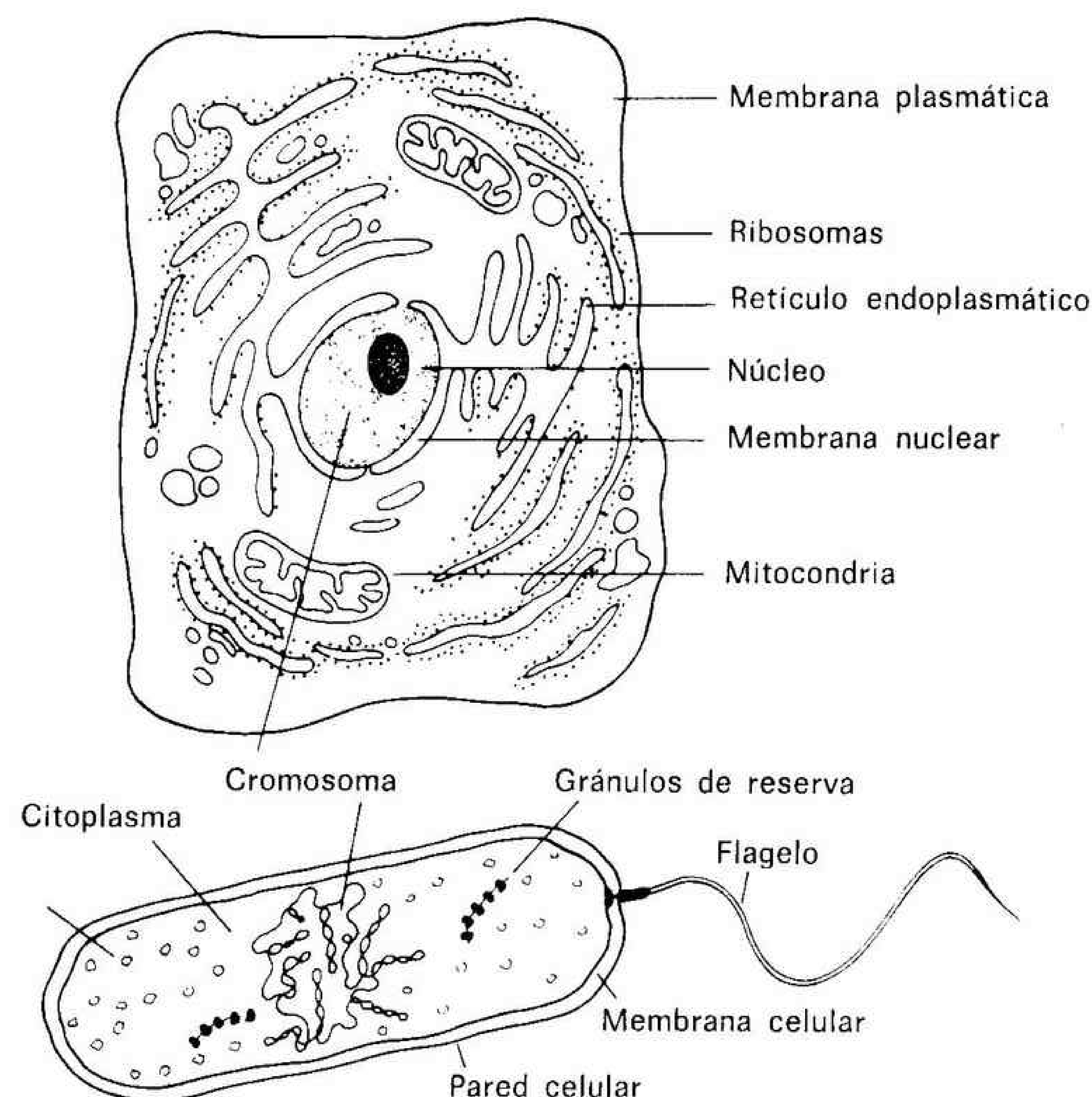


Fig. 1-1. A pesar de las obvias diferencias estructurales entre la célula bacteriana y la animal, su química fundamental es muy similar.
Abajo, célula bacteriana típica, rodeada por una delgada membrana celular, después de la cual se encuentra una pared celular más gruesa que ayuda a la célula a mantener su forma y previene de las pérdidas del material que contiene (citoplasma) en su interior. Muchas bacterias presentan un flagelo, que utilizan para desplazarse en un medio líquido. Los gránulos de reserva contienen alimento; los ribosomas son estructuras globulares donde se elaboran las proteínas. Finalmente, el cromosoma contiene los genes de la célula, codificados en una molécula de ADN muy plegado, como un cabo anudado de cuerda.
Arriba, célula animal típica. Las células de las plantas y las de los animales son mucho más complejas y de formas más variadas que las de las bacterias. El cromosoma se halla en el interior de un núcleo que posee su propia membrana. Los ribosomas están adheridos al retículo endoplasmático. Los cuerpos en forma de salchicha —las mitocondrias— proporcionan energía a la célula. La célula está rodeada por una membrana plasmática, que equivale a la delgada membrana celular de la bacteria; la célula animal carece de pared celular.

en biotecnología: las bacterias, las algas y los hongos. Las bacterias presentan, por lo general, una de estas tres formas: bastoncito, esférica o espiral, y la longitud de la mayoría de ellas está comprendida entre una y diez millonésimas de metro. Las células de las algas tienden a ser ligeramente mayores y constituye uno de sus rasgos sobresalientes que, igual que las plantas, pueden obtener energía a partir de la luz solar. Las células de los hongos se encuentran a menudo organizadas en grandes grupos, como en las setas, pero cada célula conserva la facultad de sobrevivir por sí sola. Las levaduras de la fermentación alcohólica y las de la panificación son también hongos.

Aunque quizás una bacteria apenas pese una millonésima de gramo, maravilla su polifacética actividad química. La célula está compuesta por millares de tipos de sustancias químicas, muchas harto complejas. Todas estas sustancias se pueden elaborar a partir de materiales relativamente simples, que el microbio toma de su ambiente. Los productos químicos más complejos no se forman con dichos materiales de una tirada; la célula, por el contrario, toma materiales fundamentales y desarrolla una sucesión de pequeñas modificaciones en ellos hasta lograr el producto final. Se denomina metabolismo el conjunto de reacciones químicas con que las células convierten enorme variedad de sustancias en los materiales que necesitan para vivir. Se tienen que coordinar armoniosamente estas reacciones químicas y las proteínas llamadas enzimas desempeñan una función principal en cada paso.

Las moléculas de proteínas están constituidas principalmente por carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno. Las proteínas constan de veinte tipos distintos de compuestos sencillos, los aminoácidos. La asombrosa adaptabilidad de las proteínas proviene de la gran variedad de configuraciones que pueden establecerse agrupando los aminoácidos de diversas maneras. Una cadena formada únicamente por doce aminoácidos distintos, seleccionados a partir de una mezcla de veinte clases diferentes, puede repetirse en miles de millones de combinaciones distintas. Algunas proteínas contienen sólo apenas una docena de subunidades, mientras que otras poseen más de doscientas; la mayoría de los enzimas están compuestos por más de un centenar de subunidades de aminoácidos. Para formar una proteína, los aminoácidos se enlazan en cadena de modo que el número y el orden de las subunidades en determinado tipo de proteína le caracterizan.

Cuando la célula ha formado una cadena de aminoácidos, ésta empieza a plegarse sobre sí misma. Sólo raramente las proteínas existen en forma de hileras rectilíneas de aminoácidos, pues, por lo general, la cadena gira y se repliega para crear una compleja estructura tridimensional (fig. 1-2). Este plegamiento no se efectúa al azar sino obedeciendo fuerzas químicas que dependen de la secuencia de los aminoácidos en la proteína en cuestión, de modo que el orden en que están enlazados entre sí los aminoácidos determina la configuración final de una molécula de proteína. Algu-

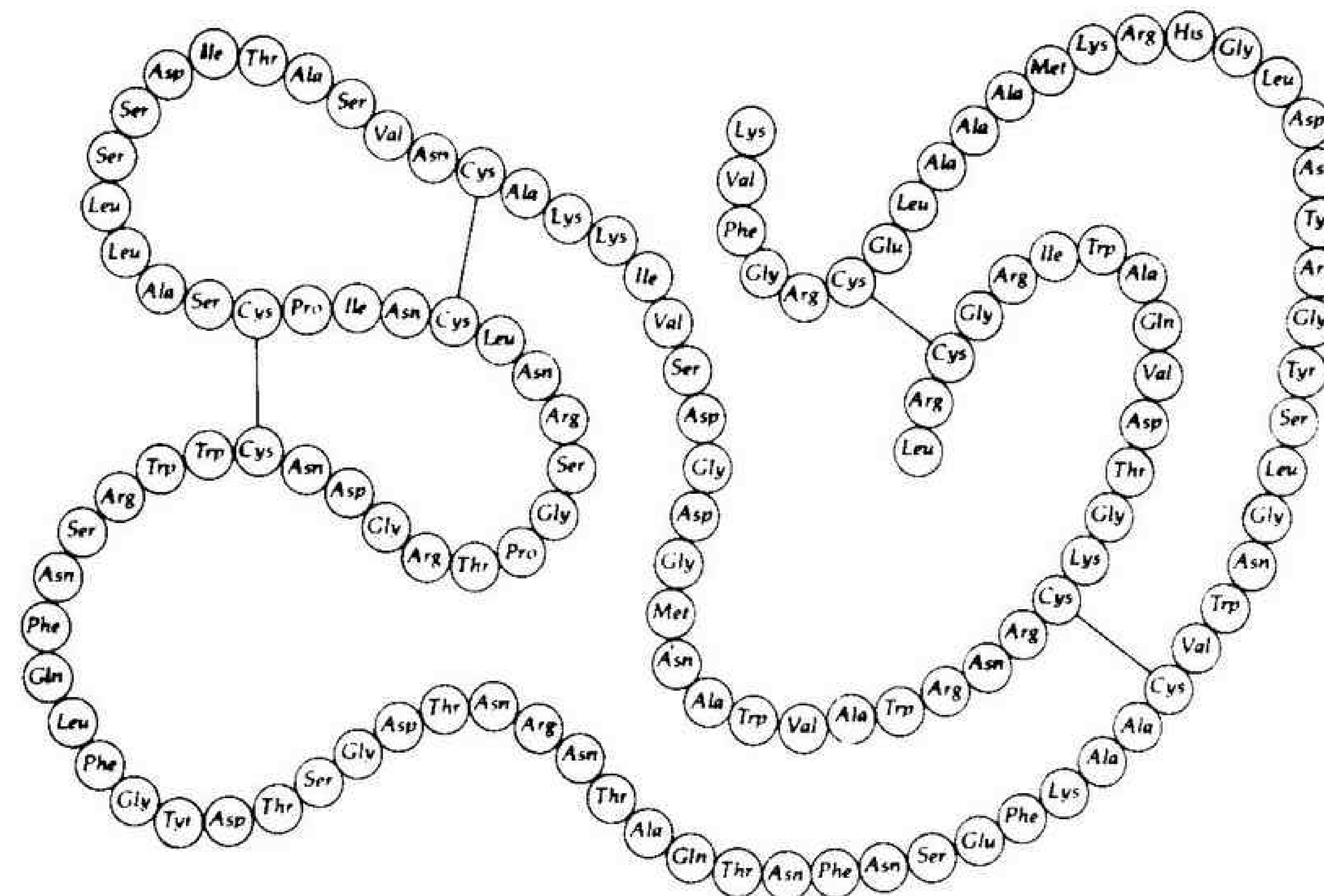


Fig. 1-2. El enzima lisozima está formado por 129 aminoácidos, representados aquí por círculos. Constan en cada círculo tres letras de un código (las tres letras iniciales de su nombre en inglés) que identifica el aminoácido correspondiente. El orden de los aminoácidos es el mismo en todas las moléculas de lisozima. Obviamente, la configuración tridimensional de esta molécula no se puede representar en una página; la molécula de lisozima adopta, en realidad, una forma tridimesional próxima a la de un balón de rugby. La lisozima se encuentra en la secreción lacrimal humana y es capaz de romper la pared bacteriana de algunas bacterias. Alexander Fleming descubrió este enzima en 1922, siete años antes del hallazgo de la penicilina.

nos enzimas, así como otras proteínas, están constituidos por más de una cadena y en estos casos, de ordinario, las distintas cadenas se forman por separado y posteriormente se ensamblan para constituir una estructura compleja.

No cabe pensar que se concede demasiada importancia a las proteínas. Posteriores investigaciones científicas han corroborado ampliamente la penetración de Gerardus Muller, químico agrícola holandés, quien —hacia 1830— acuñó el término proteína a partir del griego, «primera sustancia». El cuerpo humano contiene más de treinta mil tipos distintos de proteínas. Cada una de ellas tiene una función específica; así, por ejemplo, algunas proporcionan a los tendones su fuerza y resistencia, otras transportan el oxígeno por el interior del cuerpo humano y las hay que protegen contra las infecciones. Si bien muchas proteínas aún no se han descubierto, la lista de las conocidas ocuparía muchas páginas de este libro. En la actualidad, la biotecnología se interesa sólo por un reducido número de proteínas, en particular por las que actúan como enzimas.

ENZIMAS: ACELERADORES BIOLÓGICOS

Los enzimas son catalizadores biológicos; catalizador es toda sustancia que acelera la velocidad de una reacción química. Algunas reacciones químicas se desarrollan de manera rápida y espontánea, sin catalizador, como cuando, por ejemplo, se mezclan moléculas de hidrógeno y de flúor, que se combinan velozmente para formar fluoruro de hidrógeno. Pero muchas reacciones, incluidas casi todas las que tienen importancia desde el punto de vista biológico, transcurren muy despacio si no interviene un catalizador apropiado.

Aunque pueden considerarse los enzimas en conjunto según su propiedad de acelerar las reacciones químicas, tiene suma importancia observar que los distintos tipos de enzimas varían extraordinariamente respecto a su estructura y a su función. Cada tipo de enzima posee su propia «arquitectura» molecular y la mayoría de ellos sólo son capaces de desencadenar determinada clase de reacción química. Una célula característica puede contener mil tipos distintos de enzimas y cabe que la mayoría de las células de un organismo grande y complejo tengan decenas de miles de enzimas diferentes. Tal número se debe a que la complicada tarea de mantener vivo un organismo y asegurar que produzca descendientes sanos conlleva elevadísimo número de reacciones químicas, que casi todas requieren la intervención de un enzima. Existen, por descontado, muchas copias idénticas de cada enzima en una célula.

La mayor parte de los enzimas reciben su nombre del tipo de reacción química que catalizan al cual se suele añadir el sufijo -asa. Así, por ejemplo, el enzima alcoholdeshidrogenasa debe su nombre a que cataliza la pérdida de hidrógeno de la molécula de alcohol. Este enzima es parcialmente responsable de que quien haya tomado bebidas alcohólicas se mantenga posiblemente sereno aunque la sustracción de hidrógeno de la molécula de alcohol produce una de acetaldehído, compuesto que provoca sueño.

De qué manera los enzimas actúan como catalizadores constituye uno de los problemas fundamentales de la bioquímica. Aunque no se conocen muchos detalles de la actividad de los enzimas, se sabe ya mucho acerca de los rasgos generales que les proporcionan su maravilloso poder. La clave es su estructura tridimensional. Todo compuesto químico tiene una estructura tridimensional característica y un enzima sólo actúa con aquellas sustancias químicas cuya forma puede «reconocer». Los compuestos químicos que intervienen en una reacción catalizada por determinado enzima se denominan sustratos del enzima.

Un enzima actúa con su sustrato o sustratos por proceso parecido al de la llave y la cerradura. En la superficie del enzima existen salientes y concavidades que encajan con las irregularidades de la superficie del sustrato, de modo que cuando se encuentran un enzima y un sustrato se fusionan. Cualquier otro compuesto (es decir, cualquiera que no sea sustrato del enzima) no puede actuar como llave para el enzima-cerradura debido a la disparidad de forma. Fusionados ya el enzima y el sustrato, intervienen fuerzas químicas que rompen o establecen diversos enlaces químicos en el interior del sustrato, y estas alteraciones de los enlaces químicos constituyen la esencia de las reacciones.

En la figura 1-3 se muestra esquemáticamente de qué manera

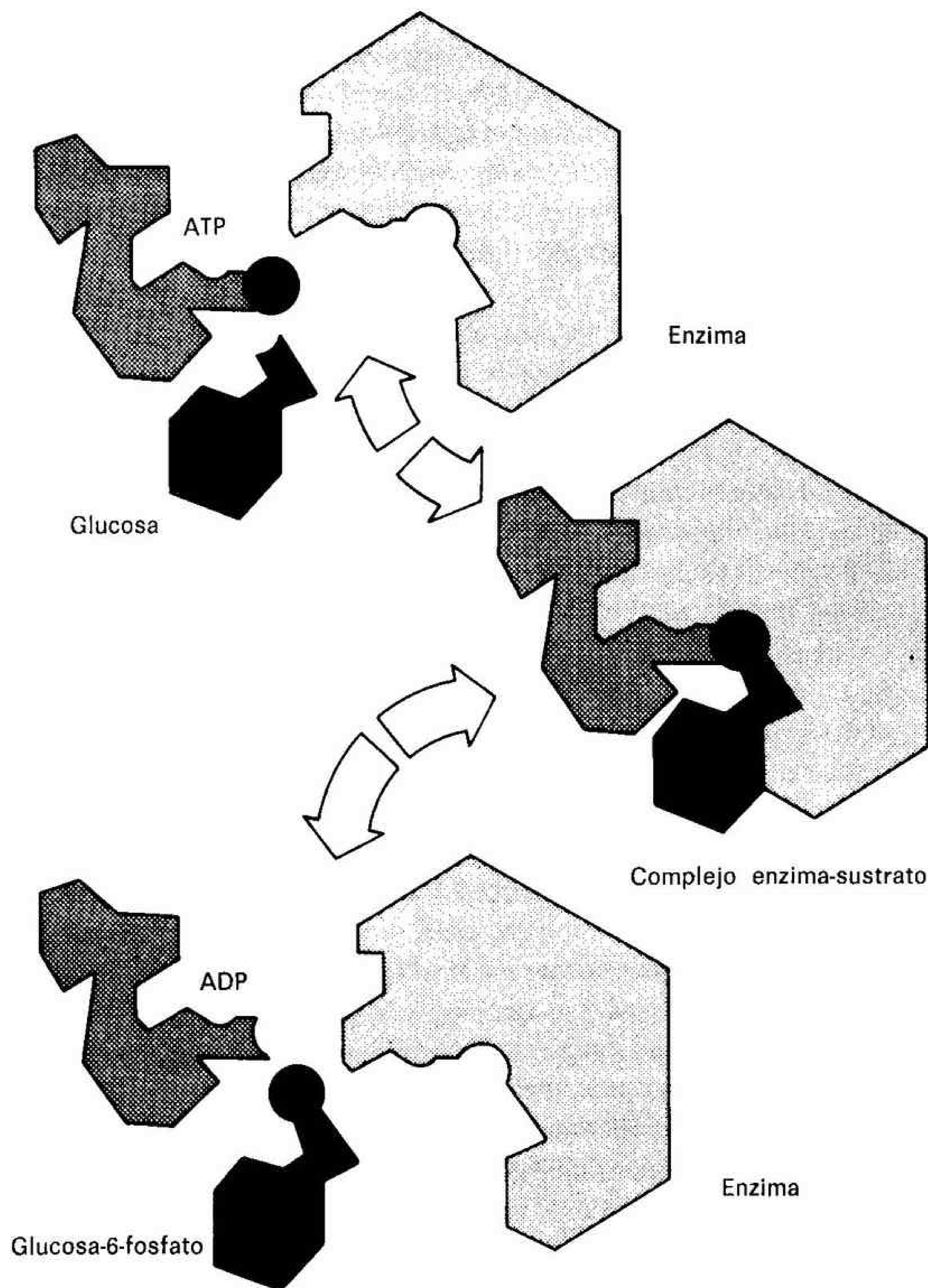


Fig. 1-3. El modelo llave y cerradura de enzima. Las dos moléculas (ATP y glucosa) que deben reaccionar entre sí encajan en receptáculos de la superficie del enzima. Cuando están firmemente ensamblados por el enzima, parte de una molécula (el círculo oscuro) se transfiere a la otra y después se liberan los productos de la reacción (ADP y glucosa-6-fosfato).

un enzima puede reconocer sus dos sustratos y favorecer su transformación en dos moléculas de producto final con propiedades químicas y formas distintas. La vida depende de que se produzcan millones de tales acontecimientos en un sistema inmensamente complejo aunque muy coordinado. Tras haber realizado el enzima su misión, se liberan los productos finales y el enzima vuelve a estar en disposición de repetir la secuencia completa y permanecer exactamente en los mismos estados físico y químico que antes de comenzar. Esta característica de todos los catalizadores permite que un enzima pueda llegar a transformar catalíticamente un millón de moléculas de sustrato por minuto.

A primera vista puede parecer una desventaja la extrema especificidad de los enzimas —su rechazo de todas las moléculas excepto sus sustratos—, pero, en realidad, resulta crucial para su gran poder. Los enzimas, al contrario de lo que dice el refrán, no son aprendices de todo y, en cambio, maestros de algo. Poseen, además de la velocidad de acción, esencial tanto para la célula como para el biotecnólogo, otra cualidad también importante: la precisión.

Un enzima no sólo selecciona los sustratos entre la gran diversidad de materiales que lo rodean, sino que también asegura la formación de productos correctos. La mayoría de los productos celulares se pueden alterar de diversas maneras: añadiendo un átomo o dos, emparejándolos; dividiendo la molécula por la mitad, etc. Para formar compuestos complejos, la célula procede realizando una serie de pequeñas modificaciones, una tras otra, de manera consecuente y predecible. No basta con el mero efecto acelerador del enzima, ya que cada enzima debe proporcionar al siguiente de la serie el compuesto parcialmente formado correcto para que así éste pueda efectuar su función. Una cadena de montaje de motores de automóvil constituye una buena analogía: se modifican y ensamblan compuestos sencillos según un orden estrictamente definido para producir un producto complicado. Importa la velocidad a que trabaja cada máquina (enzima) del proceso, pero interesa también que determinada máquina haga cada vez exactamente el mismo producto. Si varían los productos que salen de una máquina, no puede manipularlos la siguiente y se altera la cadena. En el caso de la célula, una variación de este tipo conduciría al caos (fig. 1-4).

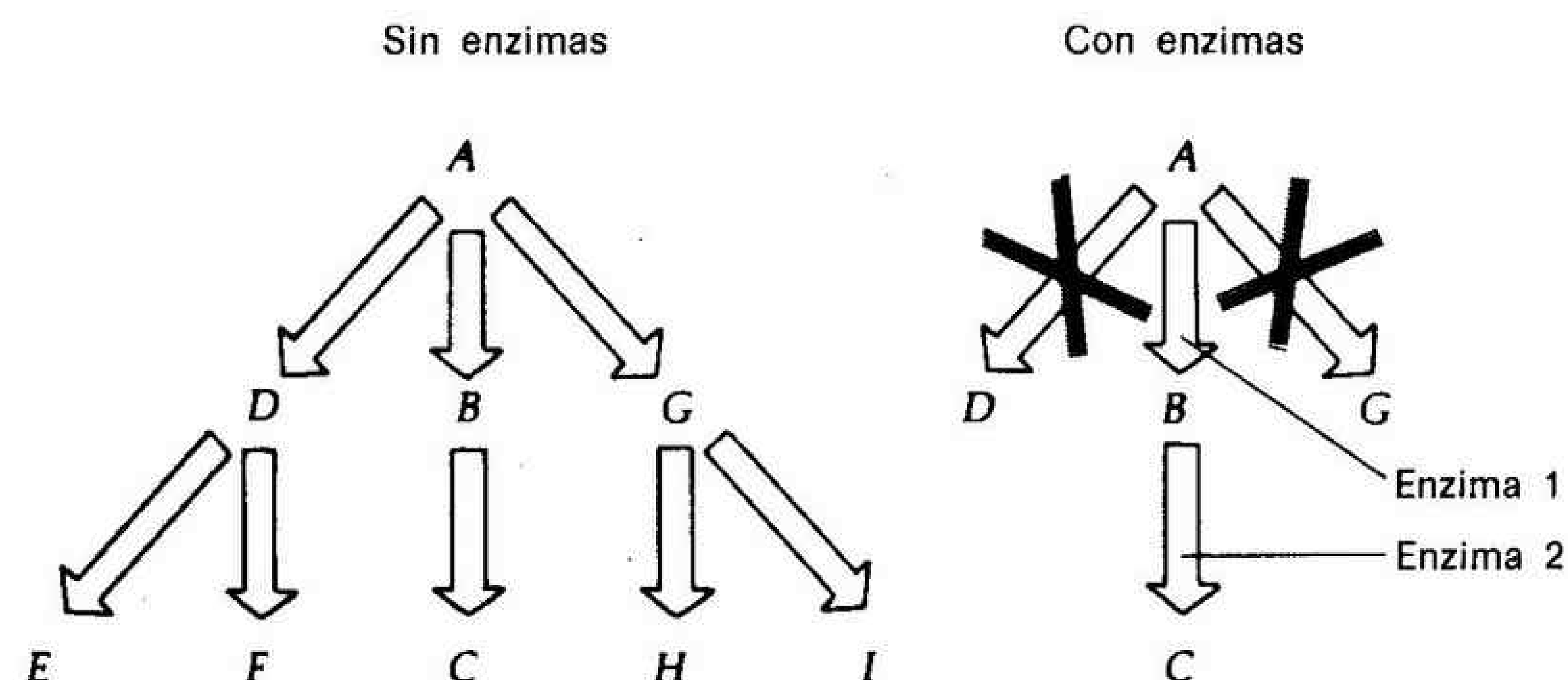


Fig. 1-4. *Izquierda,* en el esquema se muestra cómo un compuesto químico puede participar en reacciones químicas en ausencia de enzimas «directores». Cabe que muchos productos distintos sean el resultado de las diversas reacciones que pueden ocurrir.
Derecha, dos enzimas «canalizan» la reacción a lo largo de una dirección única, y con ello aseguran que sólo se obtendrá un producto, el que la célula necesita.

Esta propiedad de los enzimas para conducir las reacciones por direcciones precisas asegura gran producción del producto deseado y que no se malgaste el precioso producto inicial para elaborar compuestos no deseados o incluso nocivos. En este sentido, en el interior de la célula puede desarrollarse una gran y compleja trama de reacciones, de manera constante con resultados predecibles, y este carácter —por lo menos en el estadio molecular— es la esencia de la vida.

Pero este metabolismo celular tan finamente ajustado puede plantear problemas a los biotecnólogos. Muchos procesos biotecnológicos se han ideado para producir grandes cantidades de determinada sustancia que las células elaboran sólo en pequeñas proporciones. Un ejemplo de ello es la producción de lisina, aminoácido ampliamente utilizado como aditivo en los piensos para animales.

Casi todas las bacterias de la especie *Corynebacterium glutamicum* producen sólo la lisina necesaria para su subsistencia. Con un sistema retroactivo de regulación, que forma parte de su red metabólica, el microorganiso evalúa la lisina de que dispone; si resulta demasiado escasa, se pone en marcha el mecanismo de reacciones enzimáticas para reponerla, y si es suficiente, se detiene para no desperdiciar ni la preciada energía ni las materias primas. Pero algunas de tales bacterias presentan sistemas de regulación que no funcionan correctamente y elaboran mucha más lisina que la que realmente necesitan (fig. 1-5). Tanto la superproducción de determinadas sustancias como la regulación por retroacción tienen crucial importancia en biotecnología.

EL ADN: LA ESPIRAL DE LA VIDA

En la naturaleza, semejante engendra semejante. Las amapolas no surgen a partir de semillas de rosa ni las ovejas paren terneros. Por obvio que esto sea, hasta hace pocos años no se empezaron a desentrañar las causas de esta continuidad de la naturaleza.

El gen es la unidad fundamental de la herencia biológica. Experimentos realizados durante muchos años, principalmente en los inicios del presente siglo, condujeron a los científicos a desarrollar algunas complejas ideas acerca del modo de actuar de los genes y de su transmisión de generación en generación. Estudiando seres de reproducción rápida, especialmente la mosca del vinagre, pueden seguirse los cambios de sus características físicas durante muchas generaciones. De este tipo de investigación se saca, finalmente, la conclusión de que cada gen es, en algún sentido, responsable de la elaboración de determinado tipo de enzima. La teoría un gen un enzima, pronto fue rebasada por otra, más general, según la cual cada gen interviene en la elaboración de una proteína, que puede ser un enzima u otro tipo de proteína. Más recientemente se ha modificado esta teoría en el sentido de que todo gen es responsable de la producción de un tipo de cadena de aminoácidos. Algunas cadenas se pliegan directamente para formar un enzima activo mientras que otros enzimas están constituidos por dos o más cadenas.

Por extraño que parezca, gran parte de los trabajos iniciales de genética —ciencia que estudia la herencia biológica— la realizaron científicos que tenían únicamente muy vaga idea de lo que realmente es un gen. Aquellos trabajos revelaron mucho acerca de cómo aquellas casi abstractas entidades determinaban las ca-

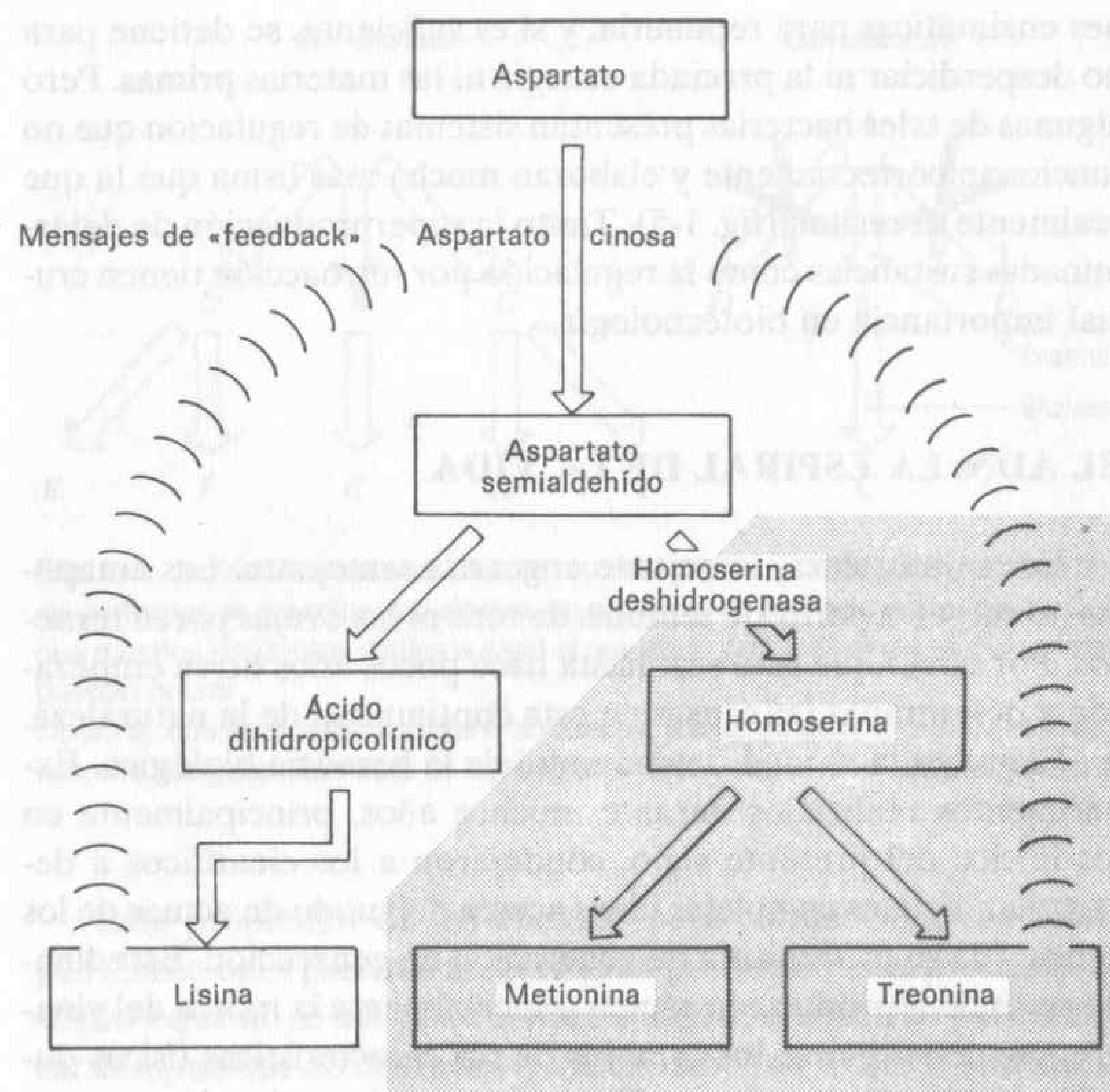


Fig. 1-5. *La Corynebacterium glutamicum* produce lisina a partir de aspartato, compuesto que también sirve como materia de partida para la elaboración de otro aminoácido, la treonina. La velocidad a que el aspartato se convierte en estos aminoácidos, vía otros compuestos químicos, está regulada por la combinación de las concentraciones de lisina y treonina en la célula. Cuando hay suficientes cantidades de ambos aminoácidos, éstos inhiben (lentifican) el enzima aspartatocinasa, responsable de la canalización del aspartato hacia la vía de reacciones que lleva a la producción de lisina y treonina. Pero algunas formas de esta bacteria carecen del enzima homoserina deshidrogenasa, que realiza una función esencial en la elaboración de treonina, pero no contribuye a la producción de lisina. Al fallar el efecto combinado de la lisina y la treonina en la aspartatocinasa, el primer enzima de la serie, las bacterias con esta deficiencia continúan produciendo lisina en grandes cantidades porque han sido «engañadas» a actuar como si la célula necesitara más lisina. Puesto que estas bacterias necesitan cierta cantidad de treonina para vivir, los biotecnólogos aportan a estos organismos una pequeña cantidad del aminoácido, la necesaria para mantenerlos vivos pero no la suficiente para detener la producción de lisina.

racterísticas físicas del organismo, de cómo podían quedar alteradas y de cómo se transmitían durante la reproducción sexual. Pero no se sabía precisamente qué tipo de moléculas eran. La situación empezó a cambiar a partir de 1940, cuando quedó establecido que los genes están formados por ácido desoxirribonucleico, o ADN para abreviar. Las moléculas de ADN son muy largas y sinuosas (lámina 2) y ahora se sabe que los genes son simplemente partes de una molécula de ADN.

Los genes son responsables de la producción de proteínas y están constituidos por ADN, aunque sería más bien erróneo decir que el ADN «hace» las proteínas, siendo mejor afirmar que contiene las «instrucciones» para confeccionar las proteínas. El laborioso ensamblaje de los aminoácidos para formar una cadena es tarea de otros componentes celulares, con el ADN dirigiendo el proceso. El haber revelado los misterios del ADN y de la síntesis de proteínas constituye uno de los logros científicos más importantes de este siglo, quizá de un período de tiempo superior al siglo, y ha ensanchado inmensamente los horizontes de la biotecnología. Elucidada la relación existente entre los genes de ADN y las proteínas (en especial los enzimas) resultaba posible empezar a pensar en cómo inducir las células a producir proteínas nuevas por introducción de fragmentos de ADN.

Cuando se tiñen con colorantes especiales y se observan con el microscopio, las células muestran algunos componentes, entre ellos los cromosomas (lámina 3). El componente más importante de un cromosoma es una inmensa y única molécula de ADN a lo largo de la cual están dispuestos muchísimos genes. El número de cromosomas presentes en una célula depende del organismo al que pertenezca la célula. Las bacterias poseen un solo cromosoma mientras que las células humanas tienen cuarenta y seis; los cromosomas de las bacterias flotan libremente en el interior de la célula, pero en los organismos superiores, incluidas plantas y animales, los cromosomas se hallan dentro de una estructura casi esférica, el núcleo celular. Los principios generales de la estructura del ADN y de la producción de las proteínas tiene validez para todo tipo de organismos, pero existen ciertas diferencias entre los organismos que albergan su ADN en el interior del núcleo (eucariotas) y aquellos que no lo poseen (procariotas). Estas diferencias

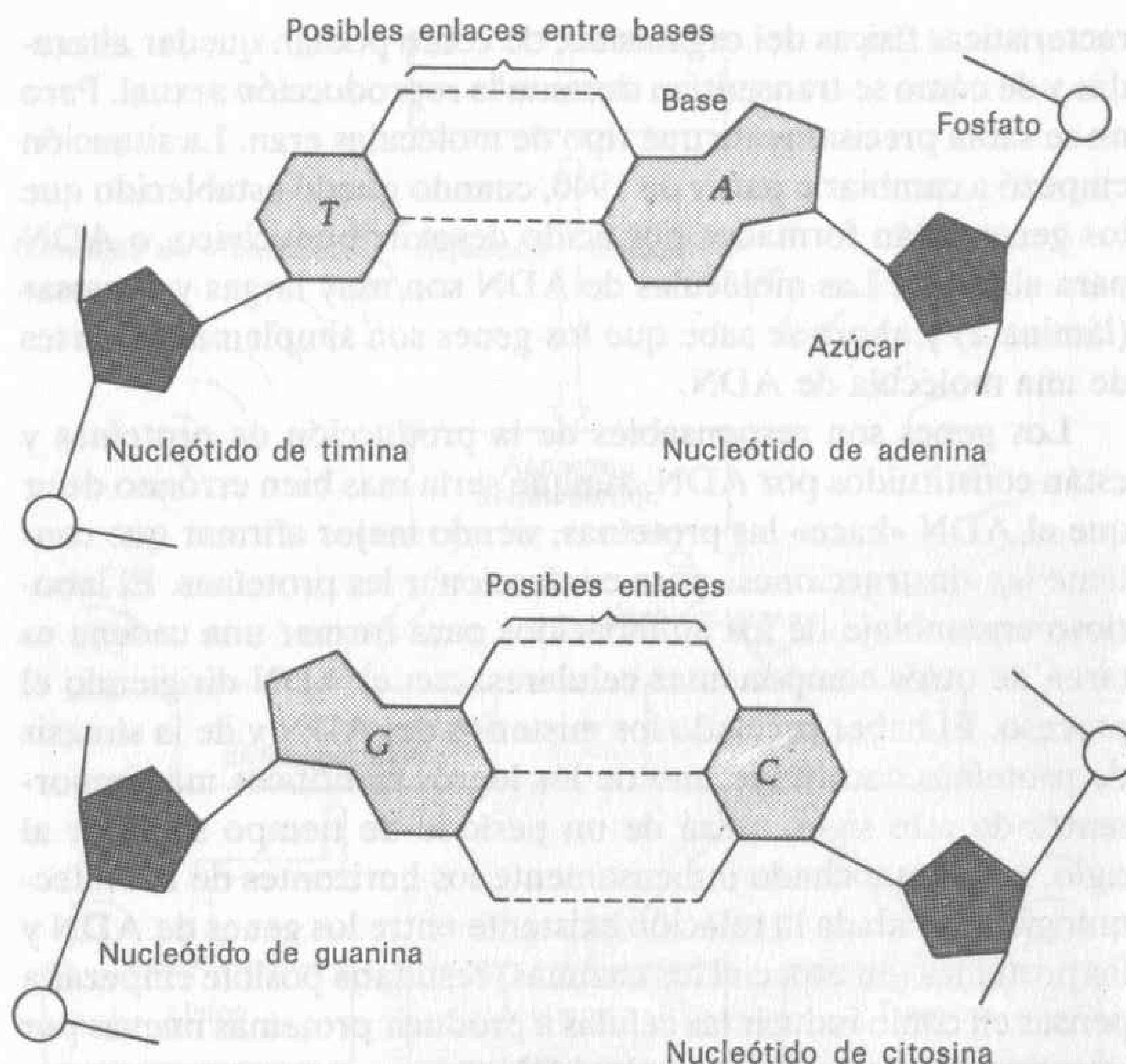


Fig. 1-6. Los cuatro nucleótidos presentes en las moléculas de ADN. Cada nucleótido está compuesto por tres partes. Las partes azúcar y fosfato son idénticas en todos los nucleótidos del ADN. La base difiere de unos nucleótidos a otros. En la figura se muestran también los posibles enlaces que cada base puede formar, tres en el caso de G y C y dos en el de A y T.

no provienen de que los organismos superiores tengan un núcleo, si bien la presencia o carencia de núcleo distingue a los organismos superiores de los inferiores. En el estadio molecular, las celulitas de levadura, que poseen núcleo, son mucho más próximas al hombre que a las superficialmente parecidas bacterias.

A pesar de su inmenso tamaño en comparación con otras moléculas, el ADN tiene una estructura destacadamente sencilla. Está constituido únicamente por cuatro tipos de subunidades, denominadas nucleótidos, unidas entre sí según una ordenación muy específica y formando cadenas. Precisamente el orden de los nucleótidos a lo largo de la molécula de ADN sirve de código para almacenar toda la información necesaria para instruir a la célula en la producción de lo necesario para la vida.

Cada nucleótido está compuesto por tres fragmentos o partes; dos de ellas —un azúcar (la desoxirribosa) y un fosfato— son iguales siempre. La tercera parte, la base, diferencia a los cuatro tipos de nucleótidos. En la figura 1-6 se muestra la configuración de los nucleótidos y de sus bases características —adenina, timina, citosina y guanina—, mientras que en la figura 1-7 se representa cómo se juntan para formar una cadena que puede llegar a alcanzar tres mil millones de nucleótidos en un cromosoma humano.

A mediados de este siglo, sólo unos pocos años después de haberse demostrado que el ADN es el portador de los mensajes genéticos, se descubrió la estructura del ADN, con lo cual se halló la clave de la herencia genética. El ADN tiene una configuración en doble hélice (fig. 1-8), ahora famosa, en que ambas cadenas de nucleótidos están enrolladas mutuamente según una hélice o espiral. Las subunidades de cada cadena están engarzadas entre sí tal como se muestra en la figura 1-7, aunque también existen enlaces entre las dos cadenas. Las bases de cada cadena quedan enfrentadas en la parte interior de la hélice y se emparejan de modo muy específico. La adenina (A) y la timina (T) pueden establecer dos enlaces entre ellas, mientras que la guanina (G) y la citosina (C), tres. Dado que cada una de ellas se empareja con otra de esta forma característica, las bases A y T se denominan complementa-

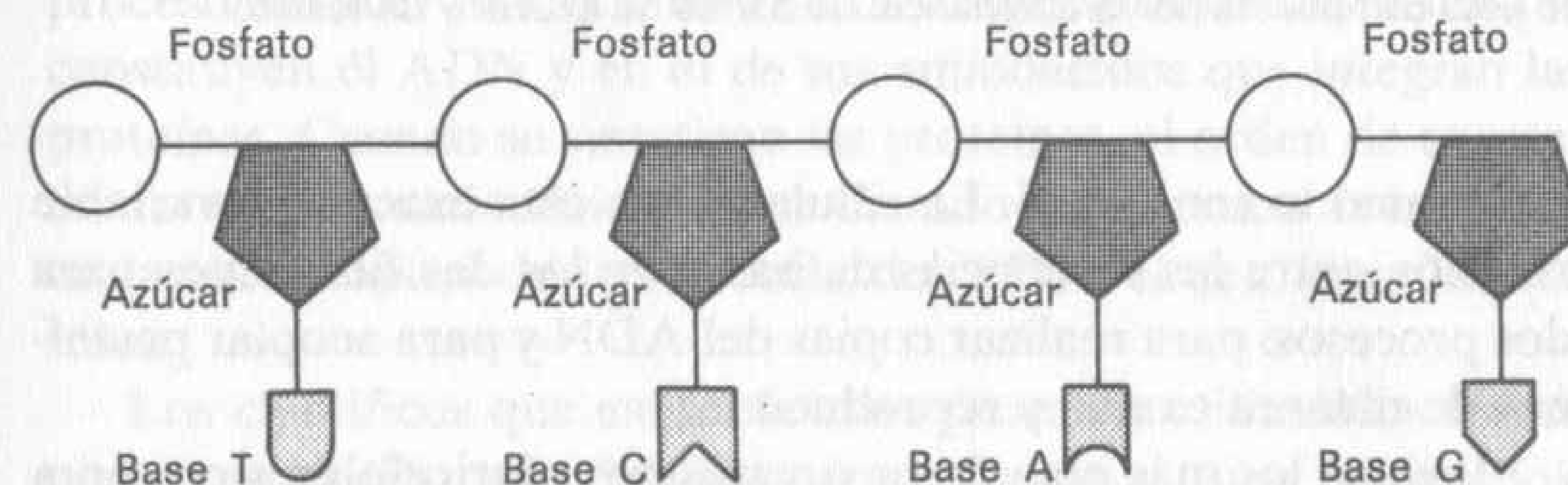


Fig. 1-7. Una cadena de nucleótidos está formada por la trabazón de éstos por los extremos azúcar y fosfato de las moléculas. Las bases de los nucleótidos cuelgan libremente de la cadena.

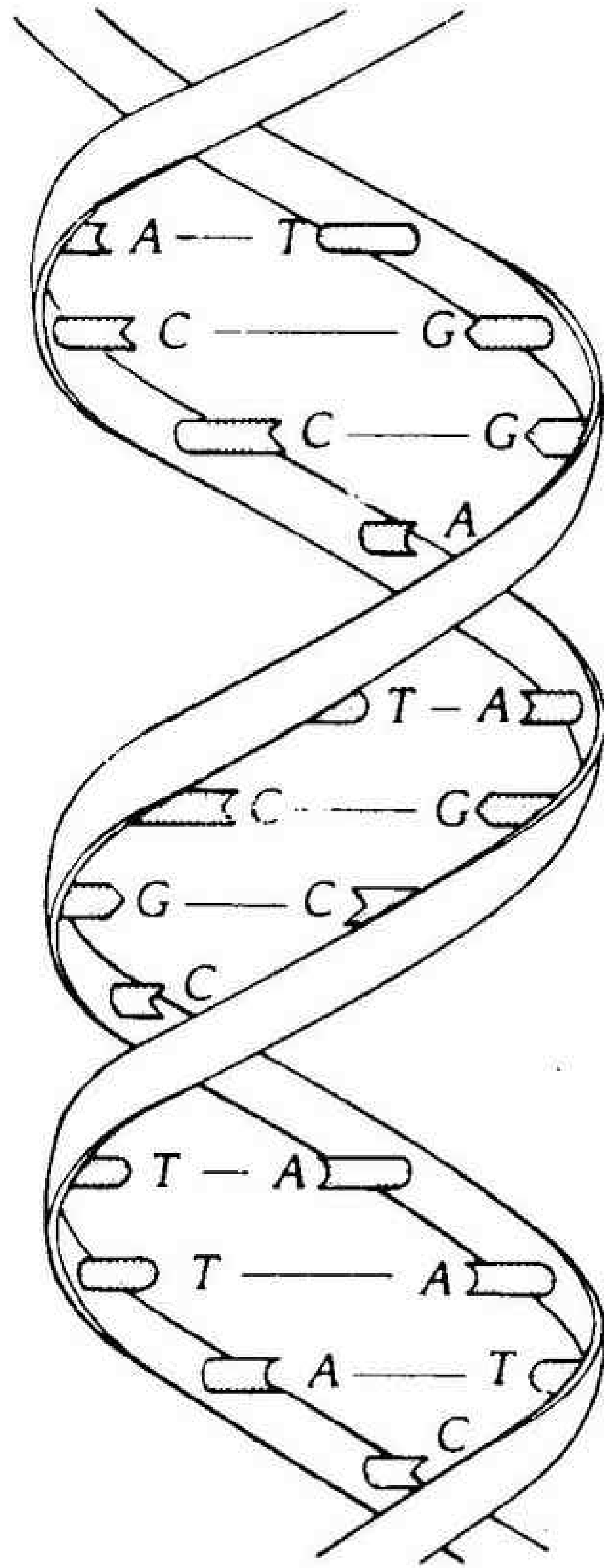


Fig. 1-8. La doble hélice del ADN. Dos filamentos de nucleótidos enrollados entre sí y enlazados por puentes que se establecen entre las bases de ambos filamentos. La guanina (G) siempre se empareja con la citosina (C), mientras que la adenina (A) siempre lo hace con la timina (T). La «cinta» continua de cada filamento está compuesta por la alternancia de partes de azúcar y de fosfato.

rias, como lo son C y G. La célula utiliza esta exacta e invariable relación entre las secuencias de bases de los dos filamentos para dos procesos: para realizar copias del ADN y para acoplar proteínas de manera exacta y reproducible.

Incluso los más complejos organismos pluricelulares crecen a partir de una sola célula, la célula huevo o cigoto, que empieza con una dotación completa de cromosomas, la mitad de los cuales proviene de la madre y la otra mitad, del padre. Cuando ha crecido

hasta determinado tamaño, la primera célula se divide en dos, éstas, a su vez, también crecen y se dividen en dos, y así sucesivamente hasta que se han formado los millones de células que constituyen un individuo adulto. Si una célula en cada división sólo recibiera la mitad de los cromosomas (y, por tanto, la mitad de la información genética contenida en el ADN), después de unas pocas divisiones apenas quedaría ADN en las células al haberse repartido entre muchas, lo cual destruiría rápidamente, como es obvio, la compleja organización de la vida. Por el contrario, el ADN de la célula se duplica justo antes de que ésta se divida y así cada célula hija dispone de una dotación completa de cromosomas. Aquí interviene la doble hélice.

En la figura 1-9 se ilustra el modo como se copia a sí misma la molécula de ADN. El proceso puede considerarse en términos fotográficos comparando un filamento de la doble hélice con una película en negativo y el otro filamento con la copia en positivo. Es evidente que ambos llevan la misma información, aunque de distinta forma. Si se separan, se puede utilizar el positivo para obtener un negativo al tiempo que el original negativo también puede servir para confeccionar otro positivo, de modo que ahora se tendrán dos pares negativo-positivo donde antes sólo había uno. La replicación del ADN es algo muy parecido.

Quizá los rasgos más sobresalientes de la vida en el estadio molecular sean la manera en que la información para producir proteínas está codificada en el ADN y el modo como la leen otras partes de la célula encargadas de ensamblar las proteínas. Con anterioridad y en este mismo capítulo se ha dado la clave de este proceso al hacer hincapié en el orden específico de las bases que constituyen el ADN y en el de los aminoácidos que integran las proteínas. Cuando se sintetizan las proteínas, el orden de ensambladura de sus aminoácidos viene dictado por el orden de las bases en la parte capital de la molécula del ADN: el gen, para la proteína.

Los científicos que estudian tales procesos utilizan los términos transcripción y traducción para referirse a estos fenómenos. Se trata de unos de los términos más felices en biología, por cuanto explicitan una analogía con el lenguaje escrito: con letras, palabras y frases. En primer lugar, las instrucciones contenidas en el

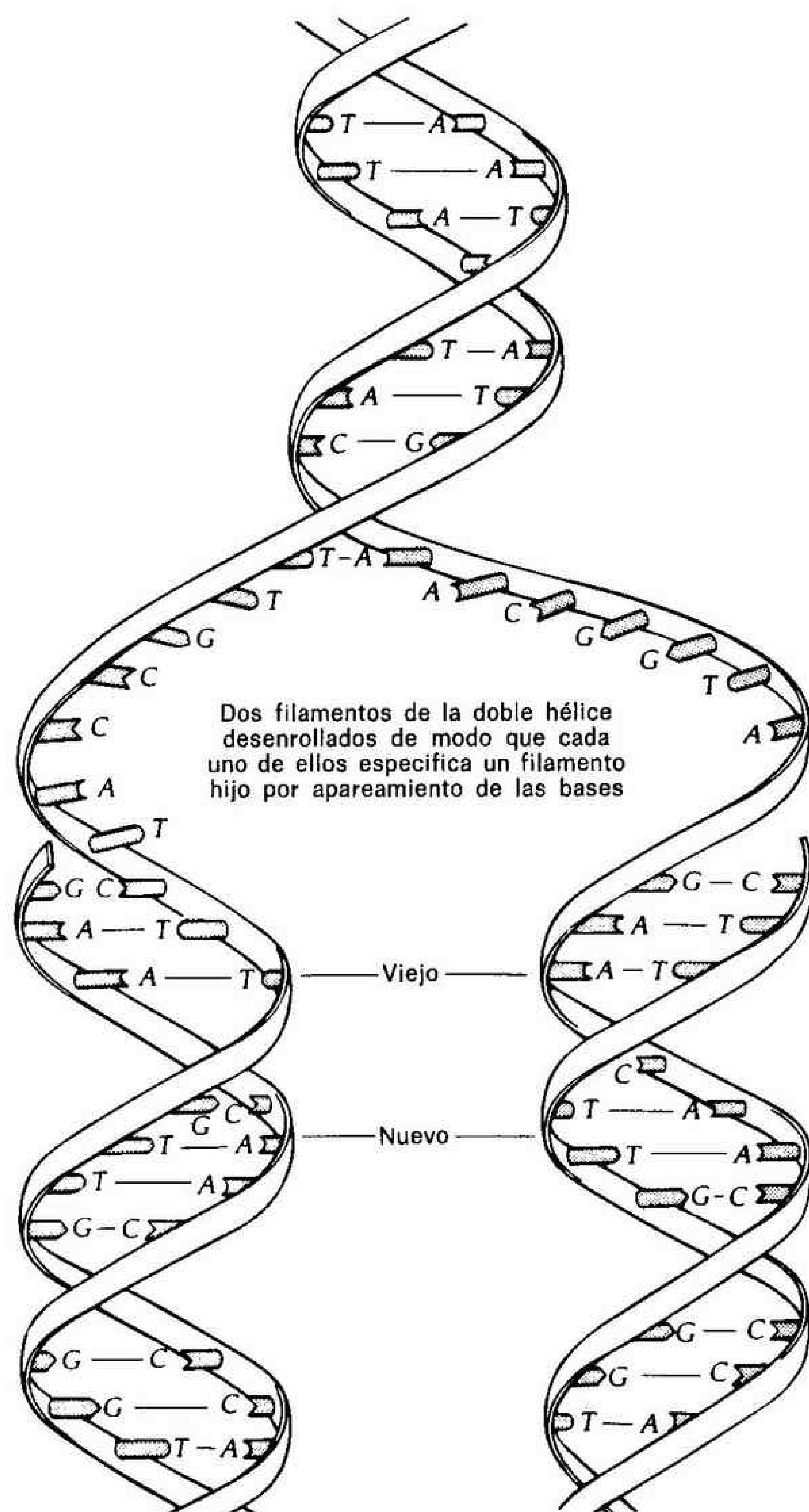


Fig. 1-9. Manera como el ADN se replica a sí mismo. Los dos filamentos de la doble hélice empiezan a separarse, rompiéndose los enlaces entre las bases de ambos filamentos. Las bases «libres» toman entonces nucleótidos libres de las existencias aportadas por la célula. A se empareja con T, y G con C. Mientras tanto, algunos enzimas cumplen la tarea de juntar estos nucleótidos en una cadena. Este proceso ocurre en ambos filamentos «parentales» y, por tanto, se originan dos moléculas idénticas de ADN a partir de la única original. El emparejamiento específico de las bases garantiza el éxito de la reproducción.

ADN se transcriben, es decir, se escriben en forma similar y, luego, se traducen, o sea, se convierten en un lenguaje de proteínas. En las figuras 1-10 y 1-11 se muestra de qué modo se utiliza una serie de bases del ADN en un pequeño fragmento del gen para instruir a la célula en el ensamblaje de los aminoácidos según un orden preciso para construir parte de una molécula de proteína.

Primero se transcribe el mensaje a otro tipo de molécula, conocido con el nombre de ARN mensajero (ARNm para abreviar); químicamente, el ARNm es muy parecido al ADN, puede reconocer las bases en el ADN y mediante este proceso de reconocimiento se confecciona una «copia de trabajo» del gen en ARNm. Después comienza el proceso de la traducción de las instrucciones contenidas en el ARNm en forma de proteína. La secuencia de las

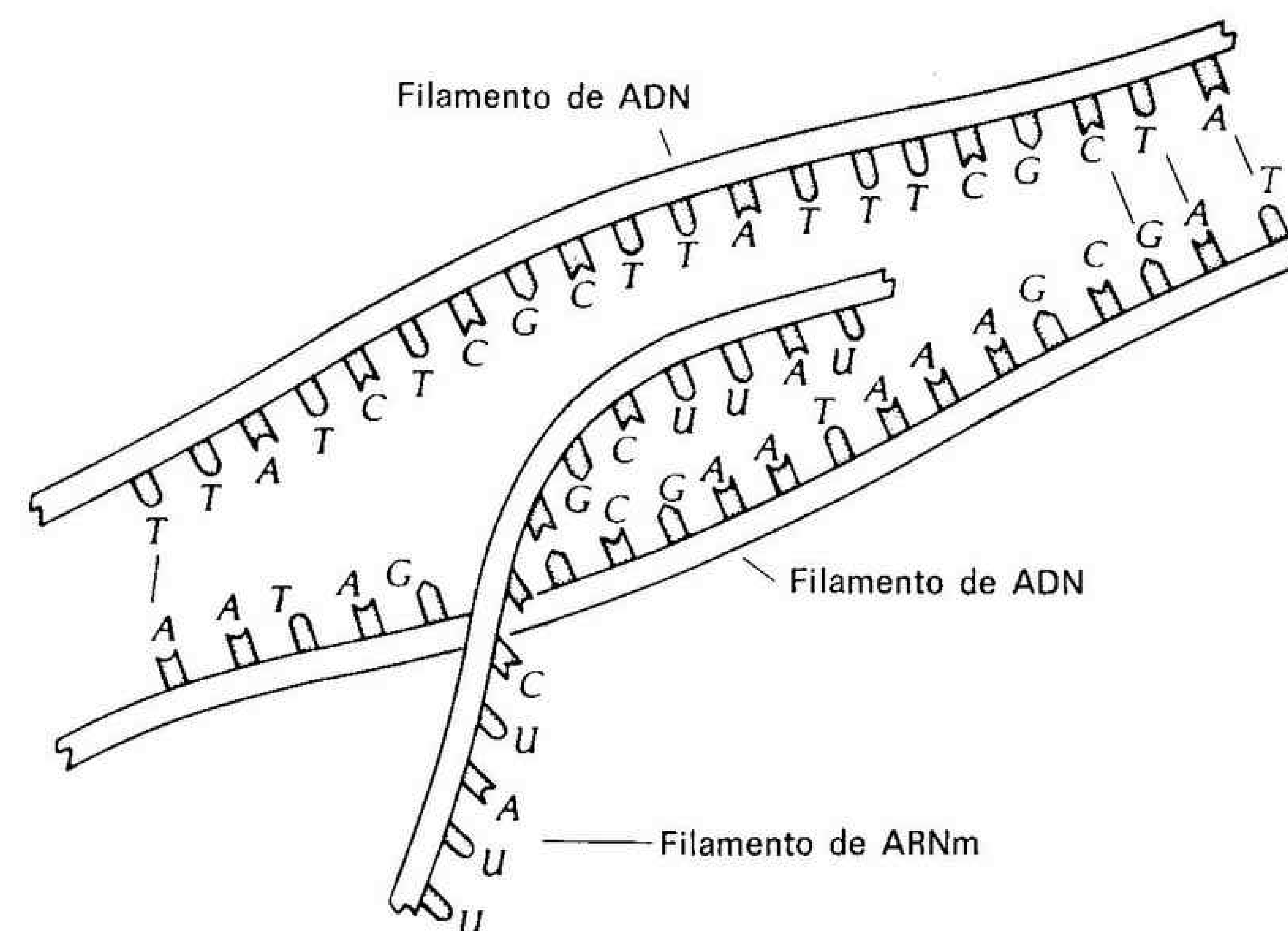


Fig. 1-10. Formación de una molécula de ARN mensajero (ARNm). Los eslabones constitutivos del ADN y del ARN se representan con un trazo oscuro, ya que ahora sólo interesan las bases. Los filamentos del ADN se separan y la molécula de ARNm se forma de acuerdo con las instrucciones contenidas en la secuencia de bases del filamento de ADN. Como sucedía en el ADN, las bases G y C se emparejan, mientras que en el ARNm una base distinta, el uracilo (U), reemplaza a la T, como pareja de A. Terminada la molécula de ARNm, se separa del ADN y se desplaza hacia otra parte de la célula, donde se descodificará su mensaje para instruir la célula acerca de cómo producir la proteína codificada en el gen de ADN.

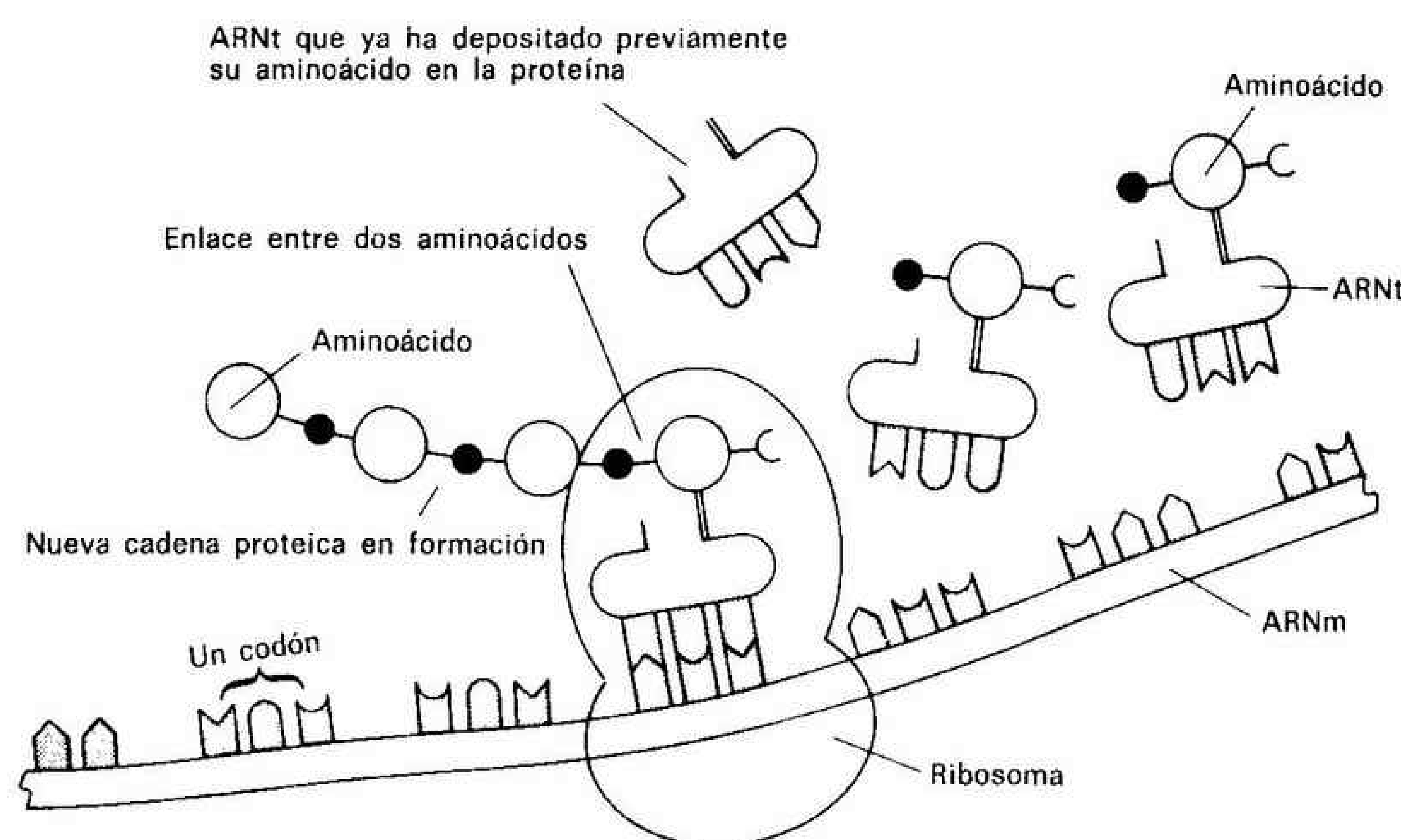


Fig. 1-11. En la traducción del ARNm intervienen docenas de tipos de moléculas, entre las que se encuentran otras dos formas de ARN, ninguna de ellas portadora de mensaje genético alguno aunque ayudan la célula a «leer» la información contenida en el ARNm. Elaborado el ARNm, abandona el núcleo (en el caso de que la célula tenga núcleo) y penetra en la cavidad principal de la célula, donde estructuras globulares relativamente grandes, los ribosomas, capturan las errátiles moléculas de ARNm. Los ribosomas están compuestos por varios tipos de proteínas más una forma de ARN, denominado ARN ribosómico. Cuando los ribosomas han asido el ARNm, el tercer tipo de ARNm —ARN de transferencia (ARNt)— entra en acción. Existen muchos tipos de ARNt y cada uno es capaz de reconocer determinados grupos de tres bases (codones) del ARNm. Además, cada tipo de ARN transporta un solo, y específico, tipo de aminoácido. La traducción del código genético depende de que un extremo de la molécula de ARNt reconoce los codones específicos mientras que el otro extremo de la misma molécula de ARNt transporta determinado aminoácido.
La molécula de ARNm se desplaza a lo largo del ribosoma de modo muy parecido a como un filme pasa por delante del proyector. En cada fase es visible una «secuencia» en el centro descodificador, y, en este caso, la secuencia es un codón. Alrededor del ribosoma y de su ARNm se encuentran muchas moléculas de ARNt y cada una comprueba si el codón «expuesto» en el ribosoma es el que concuerda con su estructura. De ser así, el ARNt deposita el aminoácido que lleva a continuación del último aminoácido en la cadena de proteína en formación. Entonces, el ARNm se desplaza otra posición a lo largo del ribosoma, expone el codón siguiente y el proceso continúa.

bases en la molécula del ARNm indica la secuencia de los aminoácidos en la molécula de proteína. En el lenguaje del ARNm, las palabras están formadas por grupos de tres bases contiguas, y cada grupo de tres bases se llama codón. Cada codón alerta a la maquinaria celular que sintetiza las proteínas acerca del aminoácido que se debe incorporar a la proteína en el sitio preciso. De este modo, paso a paso, se elaboran las proteínas de acuerdo con las instrucciones codificadas en el ADN de los genes.

La facultad de los organismos para vivir y reproducirse depende por completo de su aptitud para producir las debidas proteínas en el momento adecuado. La biotecnología actual se basa en los profundos conocimientos conseguidos acerca de los procesos por los cuales los organismos, y en particular los microorganismos, realizan tan asombrosos fenómenos químicos y en el modo en que se utilizan en provecho propio.

II. INGENIERÍA GENÉTICA: TRENZANDO DE NUEVO LOS HILOS DE LA VIDA

«Parece que la insulina humana sintetizada genéticamente es segura y eficaz para el hombre.» Esta vulgar noticia constituye un hito para la ciencia y un acontecimiento que puede revolucionar la medicina durante el próximo decenio.

En julio de 1980, diecisiete voluntarios recibieron inyecciones de insulina en el Hospital Guy de Londres. Este hecho, a primera vista, carece de relieve por cuanto diariamente millones de diabéticos son tratados con insulina, extraída de páncreas vacuno o porcino, para controlar la cantidad de azúcar en sangre y paliar los efectos debilitantes de dicha enfermedad, que constituye la tercera causa principal de muerte en los países desarrollados. Pero el reducido grupo del Hospital Guy era único: se trataba de las primeras personas que recibían una sustancia elaborada mediante ingeniería genética. Poco más de dos años después, en septiembre de 1982, la insulina procedente de bacterias fue el primer compuesto elaborado mediante ingeniería genética que recibía autorización para administrarlo al hombre.

La importancia de la insulina obtenida a partir de microorganismos manipulados genéticamente reside más que en la propia insulina (que tiene en sí un valor inmenso) en que ayuda a sostener que se puede inducir los microorganismos a elaborar gran variedad de sustancias con valor médico o comercial. Está demostrado que los microorganismos pueden producir proteínas extrañas a ellos (por ejemplo, humanas), y que son de uso seguro. La insulina es tan sólo la primera de una numerosa serie de valiosas sustancias que se pueden elaborar con ayuda de microorganismos manipulados genéticamente. Esta lista aumenta cada vez más y en la actualidad incluye el interferón, la hormona del crecimiento, vacunas y proteínas plasmáticas.

En 1975 se suscitó una gran controversia sobre la ingeniería genética, a veces denominada también manipulación genética, clonación génica e investigación sobre la fragmentación génica o acerca del ADN recombinante. Con aquellas técnicas totalmente nuevas, los científicos podían manipular el auténtico núcleo de la vida, el ADN, del cual se componen los genes, y en consecuencia resultaba posible injertar genes de un organismo en otro e inducir las células a producir materiales que nunca habían sintetizado. Buena parte de la tormenta que se abatió sobre la oportunidad de proseguir con aquellas investigaciones que inspiraban temor se referían al espinoso asunto de los temibles y posibles riesgos que podían correrse (en especial por lo que respecta a los hipotéticos «supermicrobios» asesinos) frente a los probables beneficios, particularmente en la investigación biológica y la medicina.

En los últimos años este debate ha remitido mucho y en el capítulo IX se presentan algunos datos acerca de las precauciones que han conducido a los científicos a concluir que los primeros temores acerca del ADN recombinante eran exagerados. Comoquiera que la ingeniería genética es un instrumento clave de la biotecnología, tiene gran importancia comprender cuáles son sus principios y cómo se aplica.

RAZÓN DE SER DE LA INGENIERÍA GENÉTICA

La posibilidad de transferir genes de un organismo a otro es una halagadora perspectiva por cuanto la ingeniería genética puede reducir los costes y aumentar las existencias de una enorme gama de materias primas utilizadas en la medicina, la agricultura o la industria. Además, se presentan naturalmente sólo en cantidades pequeñas y podrían resultar de gran valor si pudiera disponerse de ellas en cantidades suficientes para estudiar sus posibilidades.

Un atractivo fundamental del empleo de microorganismos como factorías para producir tales materiales estriba en que los científicos y los técnicos tienen gran experiencia en cómo cultivar de manera eficaz y económica en gran escala tales organismos. Los cerveceros y los panaderos lo han venido haciendo desde hace

milenios y la moderna industria farmacéutica ha alcanzado tal grado de perfección en ello que puede apoyar buena parte de las nuevas industrias biotecnológicas.

En el fondo, uno de los principales problemas que plantea la ingeniería genética es que muchos tipos de células no pueden crecer fuera de su ambiente normal sin que se presente un inmenso conjunto de dificultades, mientras que ya se han puesto en práctica técnicas muy eficaces para el cultivo rápido y económico de microorganismos. Así, por ejemplo, no se pueden cultivar las células del páncreas humano —la fuente natural de insulina— pero la ingeniería genética puede formar microorganismos capaces de producir dicha sustancia.

Los principios básicos de la ingeniería genética se establecieron hace apenas dos decenios, y desde entonces ha ocurrido un asombroso progreso que ha proporcionado un conjunto de instrumentos de notables cualidades. A grandes rasgos, la ingeniería genética comporta la introducción de información genética nueva en un organismo para dotarla de nuevas facultades. Para ello no se utiliza un solo procedimiento, sino que la elección del método depende del tipo de gen que se ha de transferir y del tipo de organismo que va a recibir la nueva información genética. La elección depende incluso, en alguna medida, de las preferencias personales del científico responsable del trabajo.

Las aplicaciones biotecnológicas de la ingeniería genética constan por lo general de cuatro operaciones principales: obtención del gen que codifica para el producto que interesa produzca el microorganismo; introducción del gen en él; inducción del microorganismo a iniciar la elaboración de la sustancia extraña, y recogida del producto.

PRIMERO, CAPTURAR EL GEN

De la misma manera que los tipos más familiares de ingeniería, la ingeniería genética utiliza materiales procedentes de la naturaleza, emplea conocimientos especializados e instrumentos adecuados para modificarlos en determinados aspectos y ensamblar las piezas para obtener una estructura final. Pero a la ingeniería gené-

tica se le presenta un problema particular creado por el hecho de que, por lo general, no se pueden ver los materiales que se manipulan. Con los potentísimos microscopios actuales se observan la forma y estructura de los microbios con gran lujo de detalles, pero proporcionan pocos datos sobre aquellas partes de la célula de primordial interés para la ingeniería genética: el ADN y las moléculas de proteínas. Una célula humana contiene miles de genes y cada uno es el molde para producir una proteína, pero incluso con el microscopio más potente resulta imposible distinguir un gen de otro. De modo que buena parte de las sutiles estratagemas de los ingenieros de genética están dirigidas a revelar por otros medios lo que hay bajo el mundo de los microbios y a averiguar qué efectos presenta su manipulación.

En el laboratorio, el primer paso para crear por ingeniería genética una bacteria capaz de producir una proteína humana, consiste en reconocer y aislar el gen de una célula humana que codifida tal proteína. Con pocas excepciones —en especial las células relacionadas con la reproducción sexual— todas las células del organismo contienen la misma información genética aunque no la utilizan toda en el mismo sentido. Las células de los diversos órganos realizan funciones distintas y la especialización celular es posible merced al fenómeno denominado expresión génica. Se dice que un gen se expresa si se utiliza para dirigir la elaboración de una molécula de ARNm, que entonces se puede emplear para producir una proteína. Cabe activar o inactivar los genes, igual que una bombilla eléctrica. La expresión génica no es un proceso totalitario, ya que algunos genes trabajan al máximo rendimiento mientras que otros laboran como aletargados y los demás no hacen nada. Todo depende de qué proteínas necesita la célula en determinado momento.

La ingeniería genética utiliza las diferencias en la expresión de los genes entre los distintos tipos específicos de células en lo que, quizás, es el más elegante método de aislamiento de un gen. Más que buscar entre la inconmensurable complejidad de los genes codificados en el ADN, esta técnica fija su atención en las moléculas de ARNm. Por ejemplo, si se necesita el gen de la insulina, se examinan las células pancreáticas humanas en busca de las moléculas de ARNm copiadas a partir del gen. Hay, por descontado,

otros tipos de moléculas de ARNm en la célula pero no en grado comparable a la multitud de fragmentos diversos de información genética contenida en el ADN celular.

De entrada, hay que extraer las moléculas de ARNm de la célula. Cuando se rompen, se libera gran número de sustancias: enzimas, proteínas de otros tipos, fragmentos de membrana celular y ARNm. Todos estos materiales pueden separarse mediante tratamientos con distintos productos químicos y por diversos tratamientos físicos. Uno de los pasos más importantes consiste en colocar la mezcla en tubos que giran a elevadísimas velocidades dentro de una centrifugadora. Con este procedimiento se separan los distintos tipos de moléculas de acuerdo con sus masas y configuraciones. Los materiales globulares y pesados caen rápidamente hacia el fondo del tubo, mientras que las moléculas ligeras o más irregulares permanecen en la parte superior de aquél.

La población de moléculas de ARNm aislada contiene la información genética necesaria para la síntesis de todas las proteínas que la célula estaba elaborando cuando fue destruida. Se tiene que reconvertir esta información en forma de secuencias equivalentes de ADN. (Este ADN sólo contendrá, obviamente, los escasos fragmentos de información genética correspondientes a los genes que la célula estaba usando y no los miles de otros genes que se hallaban de manera latente o «inexpresados».)

Hasta hace pocos años no se conocía ningún método para convertir en forma de ADN la información genética contenida en un ARNm. Se sabía mucho acerca de los enzimas que ayudan a la célula a obtener copias de ARN a partir del ADN, pero la información no parecía proceder nunca en sentido contrario, y entonces se produjo el hallazgo: algunos virus son capaces de ello con ayuda de determinados enzimas, las transcriptasas inversas, denominadas así porque realizan la operación inversa a la transcripción habitual del ADN en ARNm. Los virus —responsables de muchas enfermedades de los microorganismos, las plantas y los animales— son harto distintos de los demás seres: bastante más pequeños que las bacterias, no pueden considerarse como organismos plenamente vivos porque son incapaces de llevar una existencia independiente. Los virus están formados únicamente por una dotación de material genético envuelta por una cubierta de proteína.

Se reproducen modificando el funcionamiento químico de la célula hospedadora obligándola a producir réplicas del virus invasor. Determinados tipos de virus emplean ARN como material genético primario. Puesto que todas las formas de vida —desde las bacterias al hombre— emplean moléculas de ADN para almacenar su información, estos virus de ARN poseen transcriptasas inversas que convierten sus genes de ARN en forma de ADN, los cuales consiguen que la célula hospedadora forme nuevos virus.

La mezcla de transcriptasa inversa, ARNm humanos y elementos constitutivos de ADN produce copias de moléculas de ARN en ADN. Dicho ADN está en forma de filamento sencillo (y no en la más familiar de doble hélice). Entonces se utilizan otros tipos de enzimas —las ADN polimerasas— para transformar el ADN de un solo filamento en la forma de doble hélice (acoplando las bases del segundo filamento según el orden de bases del primero). Este ADN de doble filamento así obtenido se denomina ADN copia o ADN complementario, o simplemente ADNc, por cuanto es una copia de las instrucciones genéticas contenidas en la molécula original de ARNm (véase un ejemplo de ello en la figura 2-1).

PLÁSMIDOS: LOS CÍRCULOS «MÁGICOS»

Todos los genes esenciales para la supervivencia de una bacteria se hallan en su único, grande y circular cromosoma. En el interior de una bacteria se encuentran también otros círculos mucho más pequeños de ADN conocidos con el nombre de plásmidos. Los plásmidos son estructuras enigmáticas y sus funciones no se conocen en absoluto, aunque está claro que muchos son portadores de genes que proporcionan a las bacterias resistencia frente a los antibióticos. Los plásmidos mantienen una singular relación con el resto de la célula, y el aspecto más destacado desde el punto de vista de la ingeniería genética es que a menudo pasan de una célula a otra, incluso entre estirpes celulares de distinta especie.

Por consiguiente, si se toma un plásmido bacteriano y se «pega» un gen ADNc en su anillo, la facultad natural del plásmido para penetrar en el interior de las bacterias permitirá a dicho gen

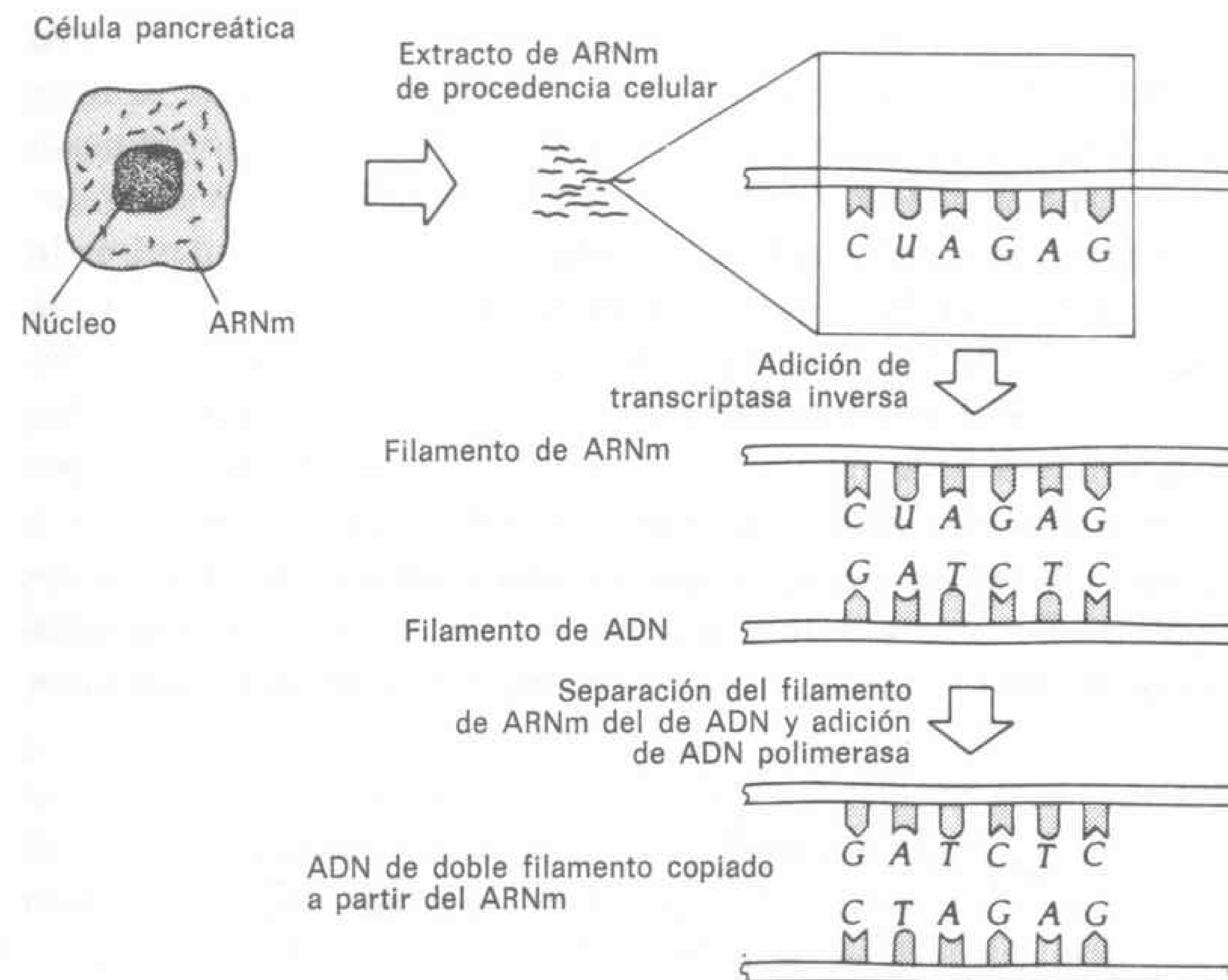


Fig. 2-1. La insulina humana es una de las numerosas proteínas producidas por el páncreas. Toda proteína tiene su propio gen y su propio tipo de ARNm. Cuando se fraccionan las células del páncreas, liberan distintas clases de ARNm, que pueden separarse del resto del contenido celular. En el esquema sólo se muestra parte de la secuencia de bases de un ARNm único. El enzima, una transcriptasa inversa, se añade al ARNm junto con los nucleótidos para elaborar el ADN. Este enzima ensambla los nucleótidos en una cadena de acuerdo con el orden de las bases en el ARNm, es decir, utiliza el ARNm como un «patrón». La ADN polimerasa transforma la molécula del ADN de nueva síntesis de tener sólo un filamento en una hélice de doble filamento. Este ADNc contiene la misma información genética que el ARNm a partir del cual se ha formado. El ADNc es, en efecto, una copia de un gen humano.
Si el proceso se inicia a partir de diferentes tipos de ARNm, se obtendrán distintas copias ADNc de numerosos genes, entre ellas las del gen para la insulina.

penetrar en su nuevo hogar. El plásmido que se utiliza para esto recibe el nombre de vector, del latín, portador. Determinados tipos de virus también pueden actuar como vectores.

Para pegar un gen humano a un plásmido se requiere la intervención de otro tipo de enzima, el de reducción. Todos los enzimas constituyen instrumentos extremadamente precisos, pero

en los de reducción su portentosa capacidad para distinguir entre estructuras similares raya en la perfección. Ante una ingente masa de ADN, los enzimas de reducción recorren la doble hélice hasta que reconocen determinadas secuencias específicas de bases y entonces efectúan una precisa incisión entre ambos filamentos de ADN. En las moléculas circulares de plásmido, esto permite la apertura del anillo y posibilita la introducción del gen humano.

Desde 1970 se han descubierto unos trescientos tipos distintos de enzimas de reducción, y cada uno reconoce una secuencia específica de bases del ADN y realiza su particular tipo de escisión. En la figura 2-2 se muestra el modo de actuar de tres enzimas de reducción. Un aspecto fundamental de su manera de proceder es que no producen un corte recto respecto a los dos filamentos

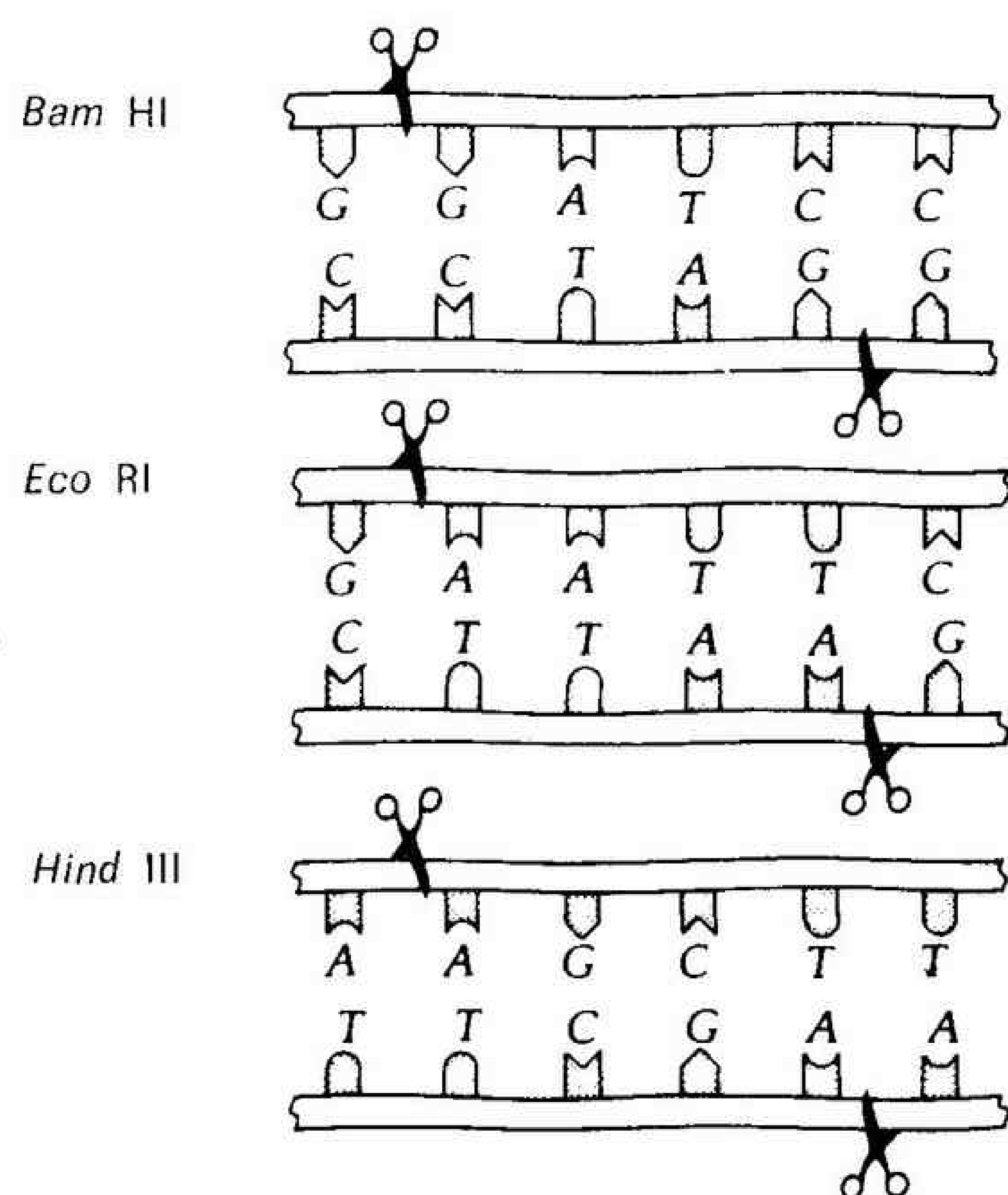


Fig. 2-2. El enzima de restricción *Bam* HI (denominado así porque se obtuvo a partir de la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* H) reconoce la secuencia de seis pares de bases del esquema y corta los dos filamentos para formar fragmentos escalonados con bases colgantes. *Eco* RI (de *E. coli* RY13) e *Hind* III (de *Haemophylus influenzae* Rd) actúan de manera parecida.

sino que originan extremos escalonados y dejan cuatro bases colgantes de cada extremo de ambos filamentos. Estas bases ya no están emparejadas con sus oponentes y son, por tanto, capaces de enlazarse con otro fragmento de ADN que posea el mismo conjunto de cuatro bases colgantes. Dado que las dos piezas separadas del ADN por mediación de estos enzimas de reducción presentan atracción mutua, se dice que tales enzimas crean extremos pegajosos, que constituyen los ganchos de los que se cuelga el gen humano (figura 2-3).

Mientras tanto, en tubos de ensayo y cápsulas de Petri aparte se prepara el gen humano —en forma de ADNc— para su fijación en el plásmido abierto. Cuando se ponen en contacto el plásmido abierto y el ADNc, se juntan para originar un nuevo anillo formado por el plásmido original y el gen humano pegado a él. Cabe también que dos plásmidos se adhieran entre sí, sin capturar ningún gen humano, o que dos de éstos se agrupen y formen un anillo. Pero únicamente el híbrido plásmido/gen humano tiene interés.

En este estadio, los dos fragmentos de ADN están adheridos de manera más bien escasa puesto que sólo los mantienen juntos ocho enlaces débiles entre los extremos pegajosos. Mediante otro enzima, una ADN ligasa, es posible establecer una adhesión permanente ya que dicho enzima adhiere las cadenas de ambos filamentos. Aseguradas dichas conexiones, la molécula recombinante resulta estable.

CLONACIÓN DEL GEN

En este momento ya se puede introducir la molécula recombinante en las bacterias que actuarán como factorías de producción de la proteína buscada. La bacteria más frecuentemente utilizada como hospedadora es un organismo llamado *Escherichia coli* (*E. coli*). La predominancia de dicha bacteria en la ingeniería genética es, en parte, una casualidad histórica. Los biólogos especialistas en moléculas habían estudiado dicha bacteria durante años y años y, en consecuencia, se sabía más acerca de los procesos internos de este ser microscópico que de cualquier otro organismo, incluido el hombre.

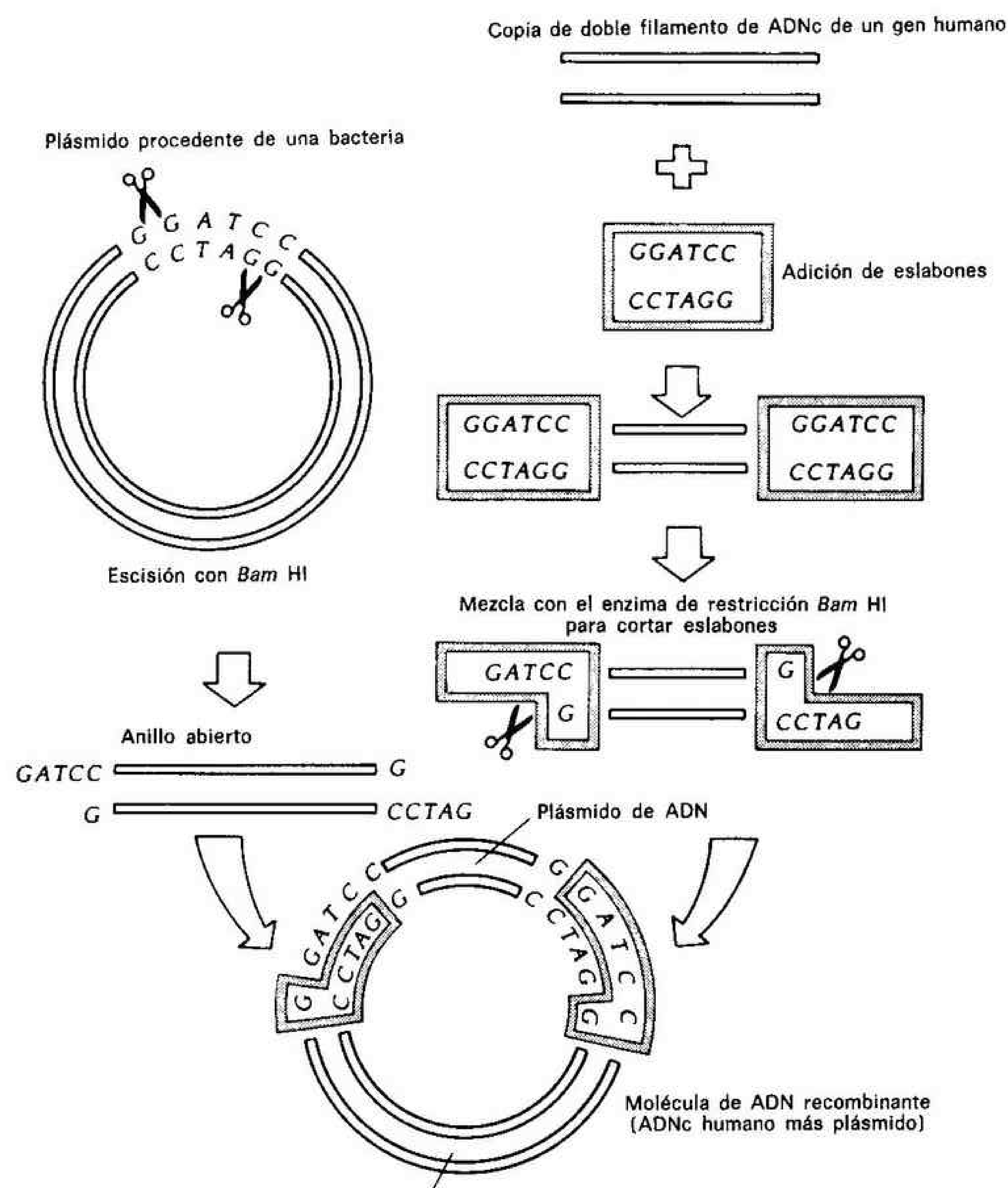


Fig. 2-3. Formación de moléculas de ADN recombinante. Los plásmidos son fragmentos pequeños y circulares de ADN, que se encuentran en el interior de algunas células bacterianas. El de la izquierda, denominado BR 322, contiene una secuencia de seis bases reconocida y cortada por el enzima de reducción *Bam* HI. Este enzima abre el anillo del plásmido y deja en cada extremo de la molécula una secuencia de cuatro bases sin emparejar.
La molécula de la derecha es de ADNc, a la que se han añadido seis bases en cada extremo. Se utiliza el mismo enzima de reducción para unir las bases terminales del plásmido que se emparejan aquí, de modo que el ADNc y el plásmido se funden, tal como se muestra en el esquema, en una molécula única circular que incorpora el ADNc de gen humano. Se trata de una molécula de ADN recombinante. Dado que los dos fragmentos del ADN cortados con este tipo de enzimas de reducción presentan mutua atracción, se dice que el enzima forma extremos pegajosos.

Los plásmidos se eligieron en función de su característica inherente para penetrar en las células de *E. coli,* invasión que puede facilitarse añadiendo algunas sencillas sustancias químicas a la mezcla. Los plásmidos presentan otra propiedad, también muy valiosa para los biotecnólogos: son capaces de producir copias de sí mismos. Una vez en el interior de una célula bacteriana, un plásmido puede multiplicarse por sí solo hasta elaborar algunas docenas de copias. Si el plásmido contiene un gen humano, entonces dicho gen queda multiplicado de la misma forma que el resto de la molécula. Puesto que la bacteria que alberga el plásmido también crece y se divide —incluso hasta cada veinte minutos—, toda célula hija recibirá algunos plásmidos que pueden duplicarse a sí mismos (figura 2-4). Antes de que transcurra mucho tiempo, una sola bacteria puede haber originado millones de descendientes. Una población de células derivadas de un antecesor común se denomina clon, y todas las células de un clon tienen idéntica dotación génica, de modo que en veinticuatro horas, una sola bacteria portadora de una molécula recombinante puede originar millones de células idénticas, que contendrán el gen humano original; entonces se dice que dicho gen ha sido sometido a clonación.

EN BUSCA DE LA BACTERIA ADECUADA

En esta fase, los ingenieros de genética precisan conocer qué tipos de bacterias hay en la mezcla de células que crecen en la cápsula de vidrio para poder reconocer aquellos pocos individuos que contienen el plásmido recombinante con su gen humano, ya que dichas bacterias se emplearán a modo de factorías microbiológicas. En realidad hay tres tipos de bacterias: en primer lugar, las bacterias infectadas por un plásmido recombinante portador de un gen humano (el único tipo que el científico busca); en segundo lugar, muchas bacterias con un plásmido normal (es decir, que no contiene un gen humano) y, en tercer lugar, bacterias que han resistido la invasión de cualquier tipo de plásmido. Aquí se requiere algún tipo de proceso de selección para reconocer las bacterias buscadas y hacer visibles los cambios ocurridos. Una sencilla pero valiosísima técnica es, en este momento, la réplica de placas

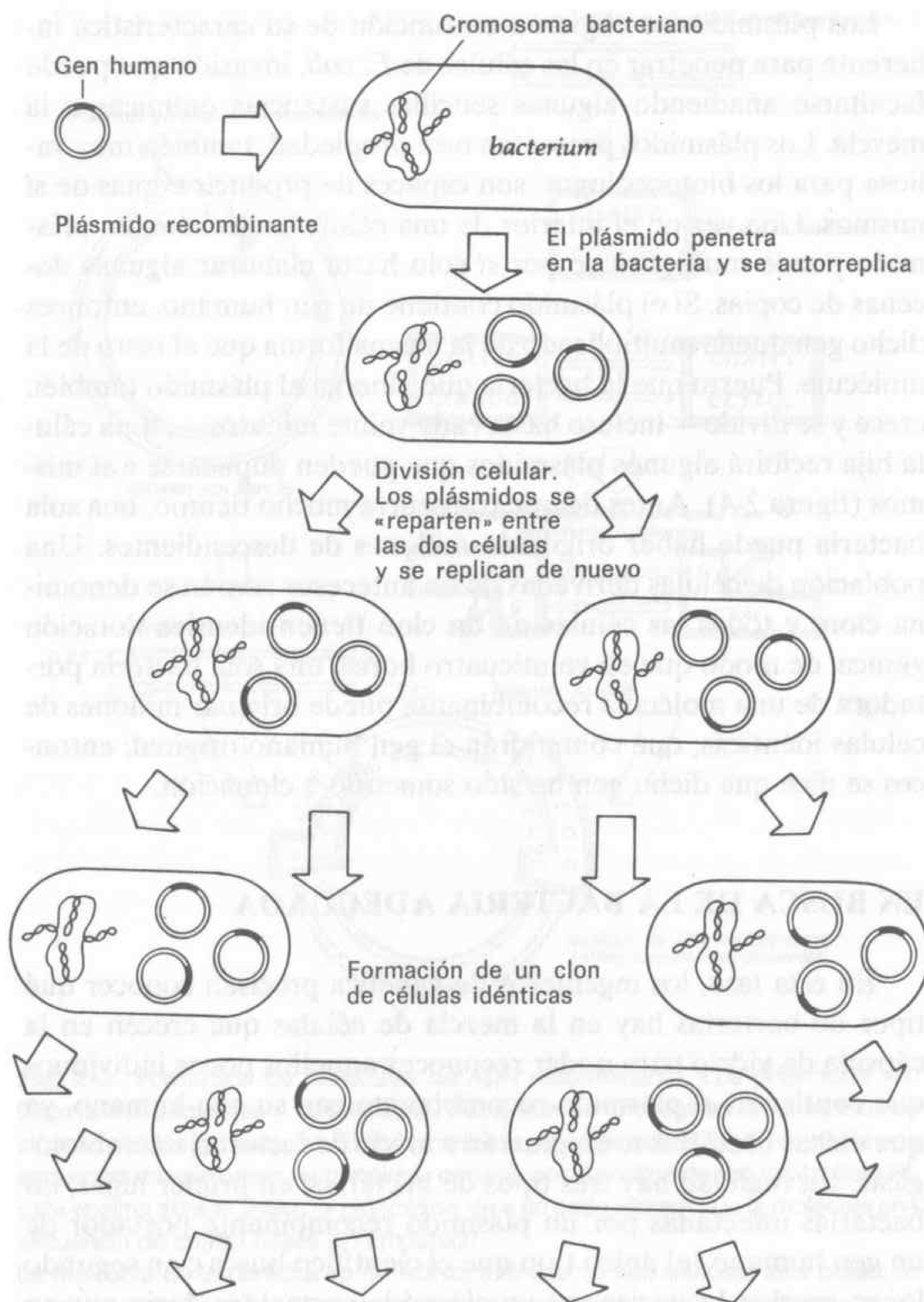


Fig. 2-4. Un plásmido recombinante, que contiene un gen humano, penetra en una bacteria, en cuyo interior le efectúan la clonación.

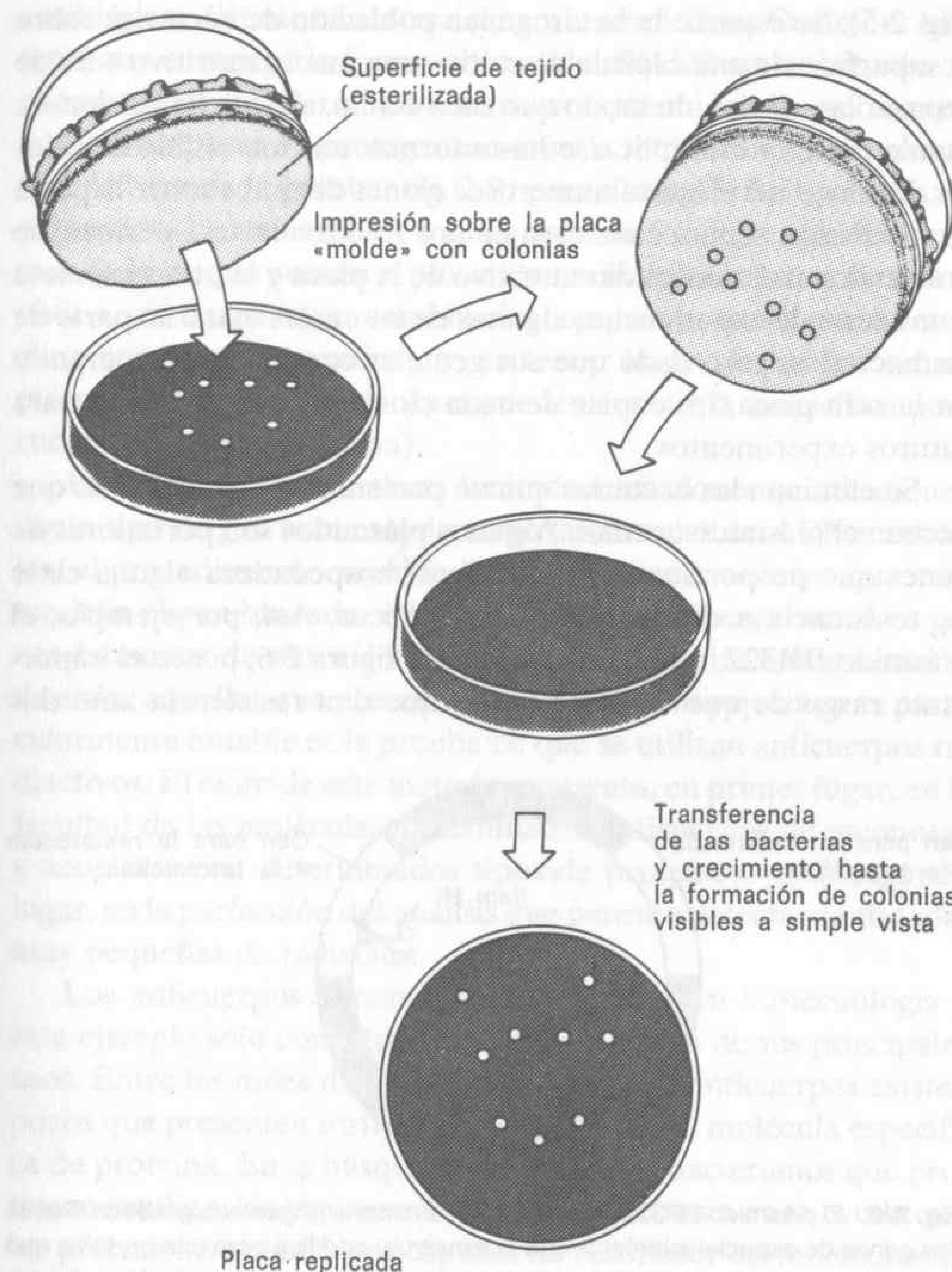


Fig. 2-5. Replicación de placas. Hay numerosas colonias bacterianas creciendo sobre una capa nutritiva depositada en una placa de vidrio (cápsula de Petri). Todas las células de cada montículo son clones descendientes de una célula original única. Se coloca suavemente un fragmento de tela estéril sobre la cápsula y algunas células de cada clon se adhieren al tejido, se desgajan de la colonia anterior y se transportan así hasta una nueva cápsula desprovista de bacterias. Las bacterias transferidas pronto se multiplican y producen colonias visibles. De este modo se obtienen dos placas en que los clones idénticos ocupan idénticas posiciones.

(fig. 2-5). Se esparce la heterogénea población de bacterias sobre la superficie de una cápsula de cultivo con medio nutritivo a fin de separar las células, de modo que cada célula, aislada de las demás, puede crecer y multiplicarse hasta formar un clon visible de células. Por lo general habrá numerosos clones distintos sobre la placa y entonces se separa cada clon en dos fracciones: una permanece creciendo en el rico medio nutritivo de la placa y la otra se somete a una serie de experiencias, algunas de las cuales matarán parte de las bacterias, pero dado que sus gemelas continúan prosperando en la otra placa, las copias de cada clon siguen disponibles para futuros experimentos.

Se eliminan las bacterias que no presentan plásmidos y las que poseen el plásmido normal. Algunos plásmidos son portadores de genes que proporcionan a la bacteria hospedadora alguna clase de resistencia a determinados antibióticos. Así, por ejemplo, el plásmido BR322, que se muestra en la figura 2-6, posee el importante rasgo de que contiene genes que dan resistencia ante dos

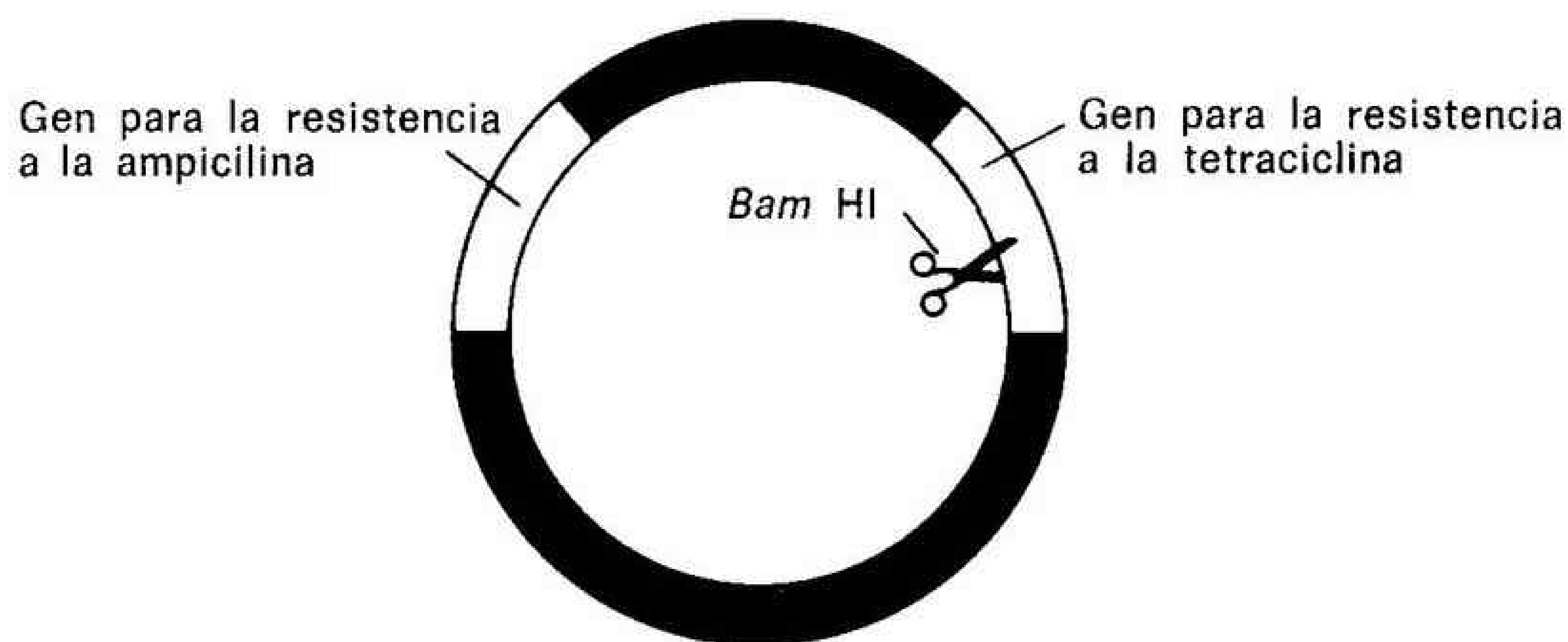
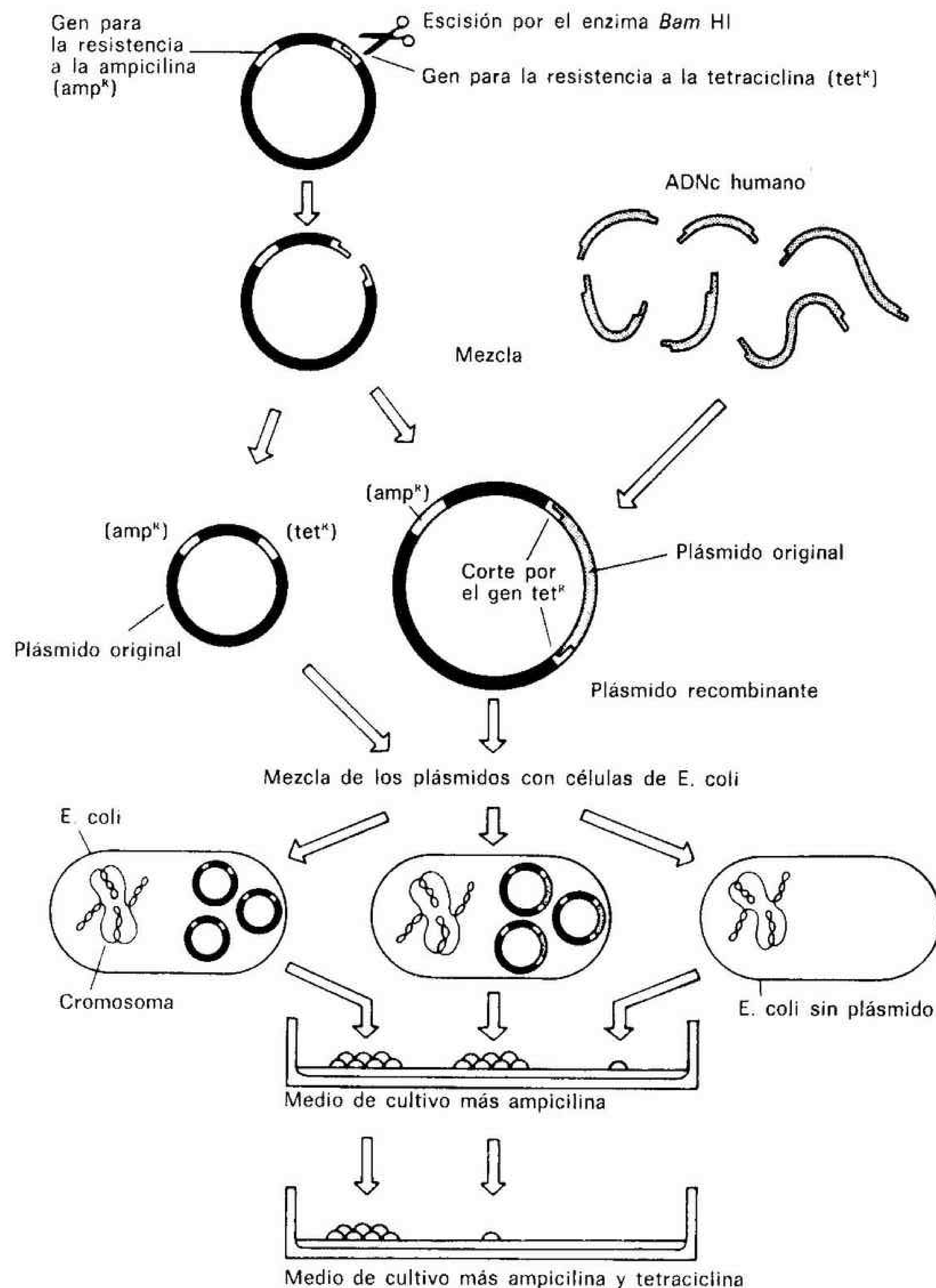


Fig. 2-6. El plásmido BR322 se utiliza ampliamente en ingeniería genética. Posee dos genes de especial interés: uno *(a la izquierda)* codifica para una proteína que proporciona resistencia al plásmido a los efectos letales de un antibiótico, la ampicilina. El otro gen *(a la derecha)* le otorga, de manera similar, resistencia a otro antibiótico, la tetraciclina. Este gen para la resistencia a la tetraciclina parece contener la serie de seis bases que reconoce y corta el enzima de reducción *Bam* HI. Si se abre el plásmido con este enzima y se introduce otro fragmento de material genético —un gen humano, por ejemplo—, entonces el gen para la resistencia a la tetraciclina ya no actúa correctamente. La tetraciclina eliminará cualquier bacteria con tal molécula de plásmido recombinante/gen humano pero no le perjudicará la ampicilina, puesto que el gen que da resistencia a este antibiótico no está afectado.

antibióticos distintos: la tetraciclina y la ampicilina. Cualquier bacteria que contenga la forma normal del BR322 no la dañarán dichos antibióticos. Pero las bacterias con plásmidos recombinantes no serán capaces de protegerse contra la tetraciclina. Esto constituye la base de la prueba (fig. 2-7) para distinguir las bacterias sin plásmidos (las vulnerables a cualquiera de los dos antibióticos citados) de las que poseen el plásmido normal (las capaces de sobrevivir a un tratamiento combinado compuesto tanto por tetraciclina como por ampicilina), y, en tercer lugar, de las que tienen plásmidos recombinantes (que pueden resistir la ampicilina pero sucumben a la tetraciclina).

La búsqueda queda ahora limitada a los clones que contienen algún tipo de gen humano; de todas las mezclas de ARNm iniciales, el procedimiento seguido lleva a unos pocos clones que contendrán el gen buscado, mientras las demás albergarán otros genes humanos de naturaleza distinta. Existen diferentes maneras de aislar aquellos que presentan el gen buscado y quizás una particularmente notable es la prueba en que se utilizan anticuerpos radiactivos. El éxito de este método se asienta, en primer lugar, en la facultad de las moléculas denominadas anticuerpos de reconocer y acoplarse con determinados tipos de proteínas, y, en segundo lugar, en la perfección del análisis que permite detectar cantidades muy pequeñas de radiación.

Los anticuerpos tienen gran importancia en biotecnología y este ejemplo sólo constituye el primero de uno de sus principales usos. Entre los miles de tipos de moléculas de anticuerpos existen pocos que presenten fortísima afinidad por una molécula específica de proteína. En la búsqueda de los clones bacterianos que producen insulina, los ingenieros de genética se basan en la ayuda que les prestan los anticuerpos capaces de reconocer las moléculas de insulina y de pegarse a ellas como etiquetas. Estos marcadores, como la mayoría de las moléculas, son demasiado pequeños para verlos directamente. Pero el «etiquetado» de tales marcadores con átomos radiactivos los hace visibles. Los anticuerpos marcados radiactivamente emiten pequeñísimas cantidades de radiación, que producen una mancha negra en una película fotográfica, de la misma manera que la luz ocasiona una mancha oscura en la película de una cámara fotográfica normal. En la figura 2-8 se muestra



cómo la combinación de anticuerpos y de marcadores radiactivos permite reconocer todas las colonias de bacterias que producen insulina.

OTRA VEZ LOS GENES

La prueba de los anticuerpos requiere la presencia del gen para la insulina en el clon bacteriano, así como que las bacterias de dicho clon empleen dicha información génica para producir insulina, o sea, que el gen se exprese. Para el biotecnólogo, es absolutamente esencial que el gen extraño se exprese en las bacterias ya que la única finalidad de esta operación estriba en obtener el producto proteínico de los genes. Para asegurar que el gen se exprese se necesitan algunos ardides más.

El lenguaje de la vida es el mismo para las bacterias que para el hombre, pero los dialectos son distintos. Mientras que un conjunto de tres bases (un codón) instruye exactamente igual a una bacteria que a una célula humana a añadir el mismo aminoácido a una cadena de proteína en crecimiento, son distintas las regiones de control que regulan, en ambos tipos de células, cuándo (más que cómo) debe producirse una proteína. Así, para una bacteria, care-

◀ **Fig. 2-7.** Reconocimiento de bacterias que albergan moléculas de ADN «plásmido recombinante/gen humano». Algunas de las bacterias puestas en contacto con los plásmidos no habrán incorporado ninguno mientras que otras muchas contendrán plásmidos inalterados que no poseen genes humanos. Tiene interés el tercer grupo de bacterias, constituido por aquellos microorganismos en que han penetrado plásmidos recombinantes. Se pueden reconocer los clones de este último grupo de bacterias mediante pruebas que comportan la utilización de dos tipos de antibióticos.
Se coloca una porción de cada clon en una cápsula que contiene nutrientes y ampicilina: los clones en que no hay plásmido mueren, mientras continúan viviendo aquellos que cuentan con algún tipo de supervivencia, como la producida por el gen de resistencia a la ampicilina. Después se transfieren los clones supervivientes a una segunda cápsula, que también contiene tetraciclina, que mata las células que albergan plásmidos recombinantes en que la introducción del gen humano al gen de la resistencia a la tetraciclina ha destruido su acción protectora. En este momento pueden seleccionarse los clones buscados y sus gemelos idénticos a partir de la placa replicada.

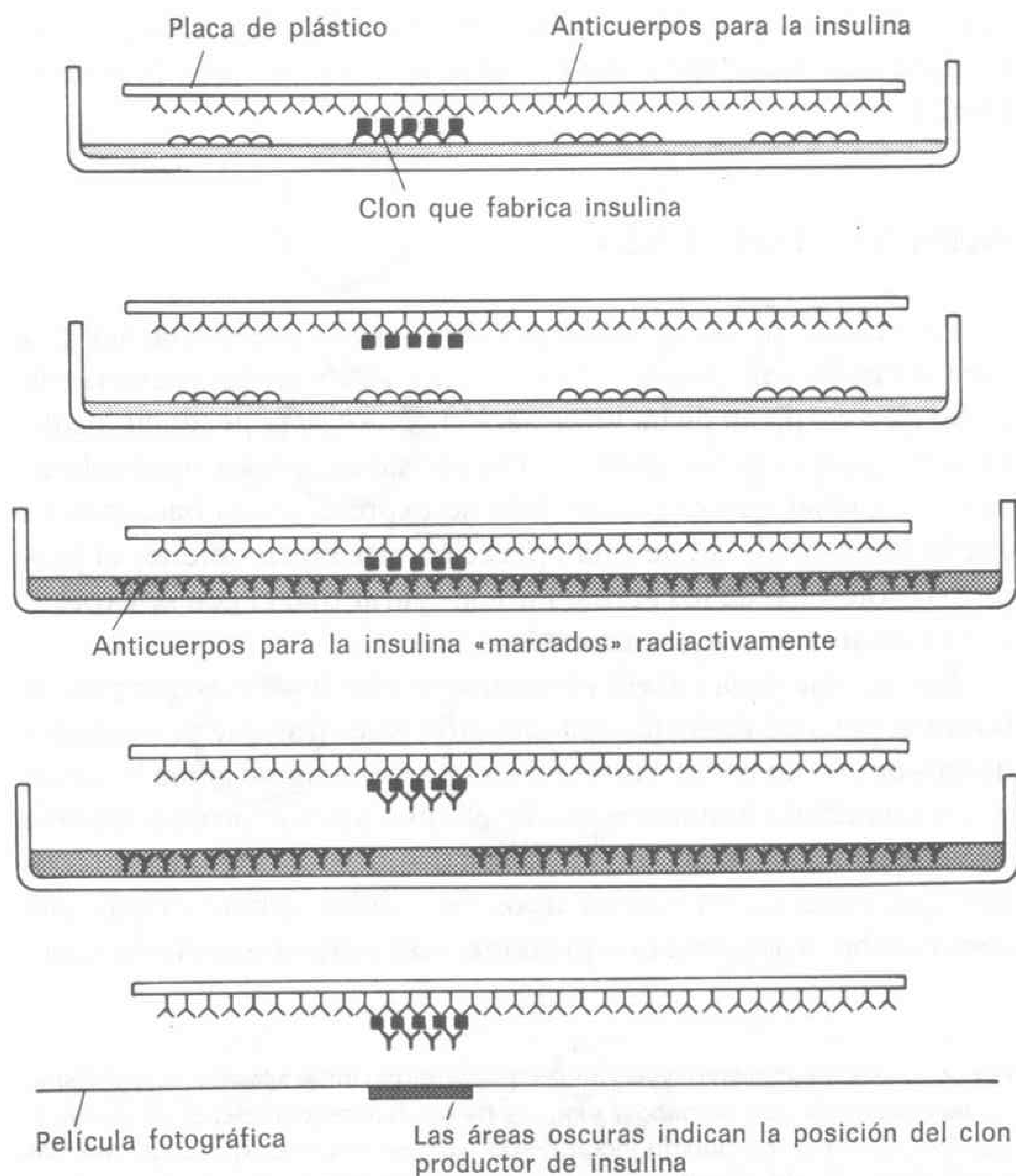


Fig. 2-8. Localización de la colonia adecuada. Para encontrar los clones que producen, por ejemplo, insulina, se fijan anticuerpos que reconocen las moléculas de insulina en una placa de plástico. Cuando se deposita este plástico en un grupo de clones, los anticuerpos que contiene bloquean cualquier molécula de insulina presente. Esta placa que ha retenido las moléculas de insulina se coloca después sobre otra capa de anticuerpos «marcados» radiactivamente, que se adherirán a las moléculas de insulina. Sólo toman estos anticuerpos marcados cuando entran en contacto con la insulina. Luego, toda la placa de plástico que contiene los emparedados de anticuerpo/insulina/anticuerpo marcado radiactivamente se coloca sobre una película fotográfica, que se ennegrece en aquellos lugares en que hay los anticuerpos radiactivos. Se pueden reconocer los clones capaces de producir insulina comparando la posición de las manchas negras en la película con las de cada clon en la cápsula original.

ce de sentido la región de control normal de un gen humano y simplemente la ignora, de modo que no se elabora la proteína humana. La solución consiste en injertar regiones de control bacterianas en los genes humanos antes de que éstos, a su vez, sean introducidos en su nuevo hogar (fig. 2-9). Entonces, la bacteria encuentra una señal familiar: «empezar a producir el ARNm del gen siguiente», que es precisamente lo que hace porque no tiene manera alguna de percibir que el gen siguiente pertenece a un organismo extraño.

Hay distintos tipos de regiones de control bacterianas. Algunas activan o expresan los genes de sus proximidades sólo en determinadas condiciones, mientras que otras, asociadas con genes

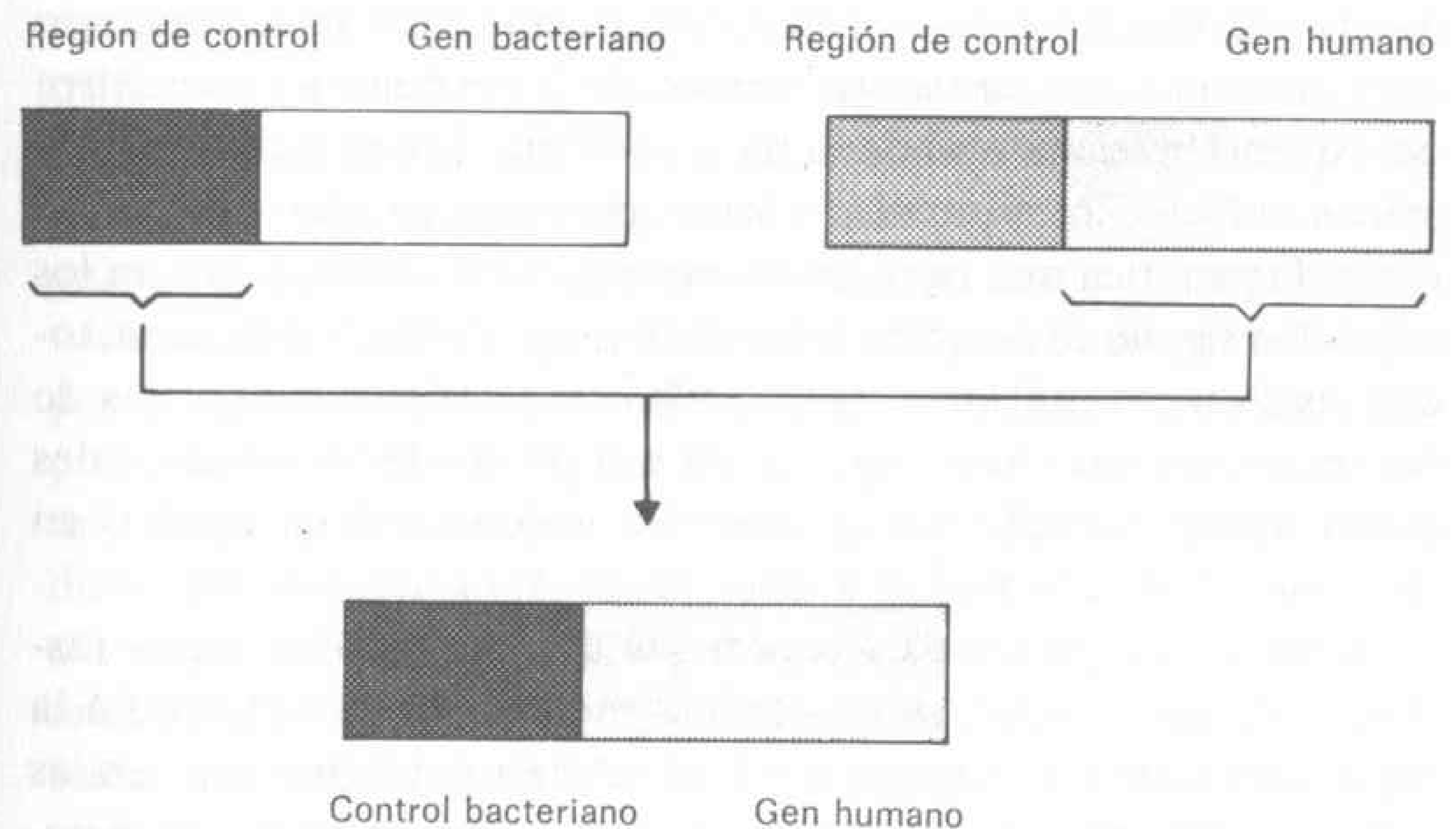


Fig. 2-9. De manera característica, en la parte terminal de los genes bacterianos así como la de los humanos hay regiones de control, además de la secuencia de bases que especifica el orden de los aminoácidos en sus proteínas. Las bacterias no responden a las señales humanas de control. Para obligar una bacteria a iniciar la producción de una proteína humana, se tiene que sustituir la región de control humana por una procedente de un gen bacteriano. Los enzimas de reducción son, otra vez en este caso, de gran utilidad al ayudar a la ingeniería genética a escindir las moléculas de ADN en puntos específicos. Posteriormente deben reordenarse los fragmentos para obtener una molécula de ADN híbrido compuesta por un gen que codifica para una proteína humana más la región de control de un gen bacteriano. Una vez en el interior de la bacteria, dichas regiones de control ordenan a la célula iniciar la producción de la proteína humana.

que las bacterias necesitan expresar a lo largo de todas sus vidas, estimulan de modo continuo la célula a transcribir los genes adyacentes en ARNm. Suele ser mejor inserir estos últimos tipos de señales de control a los genes humanos porque así resulta posible producir mayor cantidad de proteína humana.

ALMACENAMIENTO DE LOS PRODUCTOS

La proteína humana permanece, por lo general, en el interior de la célula bacteriana de modo que la única manera de beneficiarla es recoger las células y purificar a partir de ellas el material deseado de entre la gran masa de sustancias desechables. La eficacia con que esto puede hacerse varía en función del microorganismo de que se trate y de la proteína producida. Este procedimiento se denomina *down-stream* (a merced de la corriente) y constituye un aspecto fundamental de la biotecnología. Los principios generales son los mismos para los microorganismos producidos por ingeniería genética que para los microorganismos naturales y en los capítulos siguientes se presentan algunos ejemplos. En esencia, todas las técnicas utilizan determinadas características químicas de las proteínas, así como algunas de sus propiedades físicas, tales como forma, tamaño, carga eléctrica, solubilidad en agua o en otros líquidos, reactividad a otros productos químicos, etc.

Uno de los principales beneficios que los biotecnólogos responsables del proceso *down-stream* pueden obtener merced a la ingeniería genética es engañar a las bacterias para que secreten las proteínas humanas al medio que las rodea. Muchos microbios poseen eficaces sistemas para transportar algunas de sus proteínas naturales a través de sus membranas hacia el medio externo. Esto es necesario, por ejemplo, en el caso de los enzimas que destruyen los antibióticos, ya que la bacteria no puede esperar a que el antibiótico haya penetrado en la célula para atacarlo. Las proteínas secretadas por las bacterias llevan adheridas etiquetas en que se lee: «para la exportación». Estas «etiquetas» son secuencias específicas de aminoácidos y a menudo los especialistas en ingeniería genética consiguen que las proteínas humanas las lleven adicionalmente; en este caso se puede aislar la proteína del líquido que rodea las bacterias sin necesidad de tener que extraerla de las propias bacterias. Después se elimina de la proteína humana la etiqueta para la exportación.

ROMPECABEZAS DE GENES Y ADN DE DESECHO

El resumen expuesto hasta ahora de la ingeniería genética resultaba correcto en 1976. Pero durante el año siguiente se realizó un notable descubrimiento que condujo hasta la actual ingeniería genética: la mayoría de los genes humanos están constituidos por varios fragmentos. En las bacterias y en determinados tipos de algas (o sea, en los organismos procariotas) existe una relación directa entre la secuencia de bases de un gen y la secuencia de aminoácidos de su proteína producto. El primer trío de bases indica el primer aminoácido en la proteína, mientras que el segundo trío determina el segundo aminoácido y así sucesivamente, hasta que las últimas tres bases señalan el fin de la cadena de proteínas. Los genes de los organismos eucariotas (grupo que comprende las levaduras, las plantas y los animales) están a menudo partidos. Así, por ejemplo, el gen que codifica para el colágeno —importante proteína de los tendones, huesos y ligamentos— está formado por más de cincuenta fragmentos. Esto no significa que cada parte de dicho gen sea una molécula de ADN físicamente independiente, sino que las bases del ADN que codifican para el primer trozo de aminoácidos de la cadena de la proteína están separadas de las bases que codifican para el trozo siguiente por medio de largas cadenas de bases, que no contienen información utilizada en la elaboración de la molécula del colágeno. Estas secuencias que no codifican se conocen con los nombres de secuencias interpuestas, intrones o ADN de desecho. Parece que los intrones pueden constituir para los organismos una ayuda para la creación de nuevos tipos de proteínas. Fragmentando el ADN codificador en varios trozos puede resultar más fácil el uso de las unidades básicas para producir nuevas proteínas. Esta teoría «modular» es análoga a las piezas de construcción «Lego»: relativamente pocos tipos de piezas (regiones codificadoras específicas de ADN) se pueden reordenar para montar numerosas estructuras distintas (proteínas).

Cualquiera que sea la función de estos intrones, lo cierto es que no poseen información usada normalmente por la célula para ensamblar aminoácidos en una cadena de proteína. Los organismos eucariotas cuentan con enzimas especiales que eliminan los intrones superfluos que contiene el ARNm cuando se acaba de transcribir a partir del gen. El mensajero resultante, más corto, se llama ARNm maduro (fig. 2-10) y se traduce a proteína. De manera similar, los biotecnólogos utilizan este ARNm maduro para obtener copias de ADNc de los genes, tal como se describe en la página 53. Si se obtuviera una copia en ADNc de un ARNm que

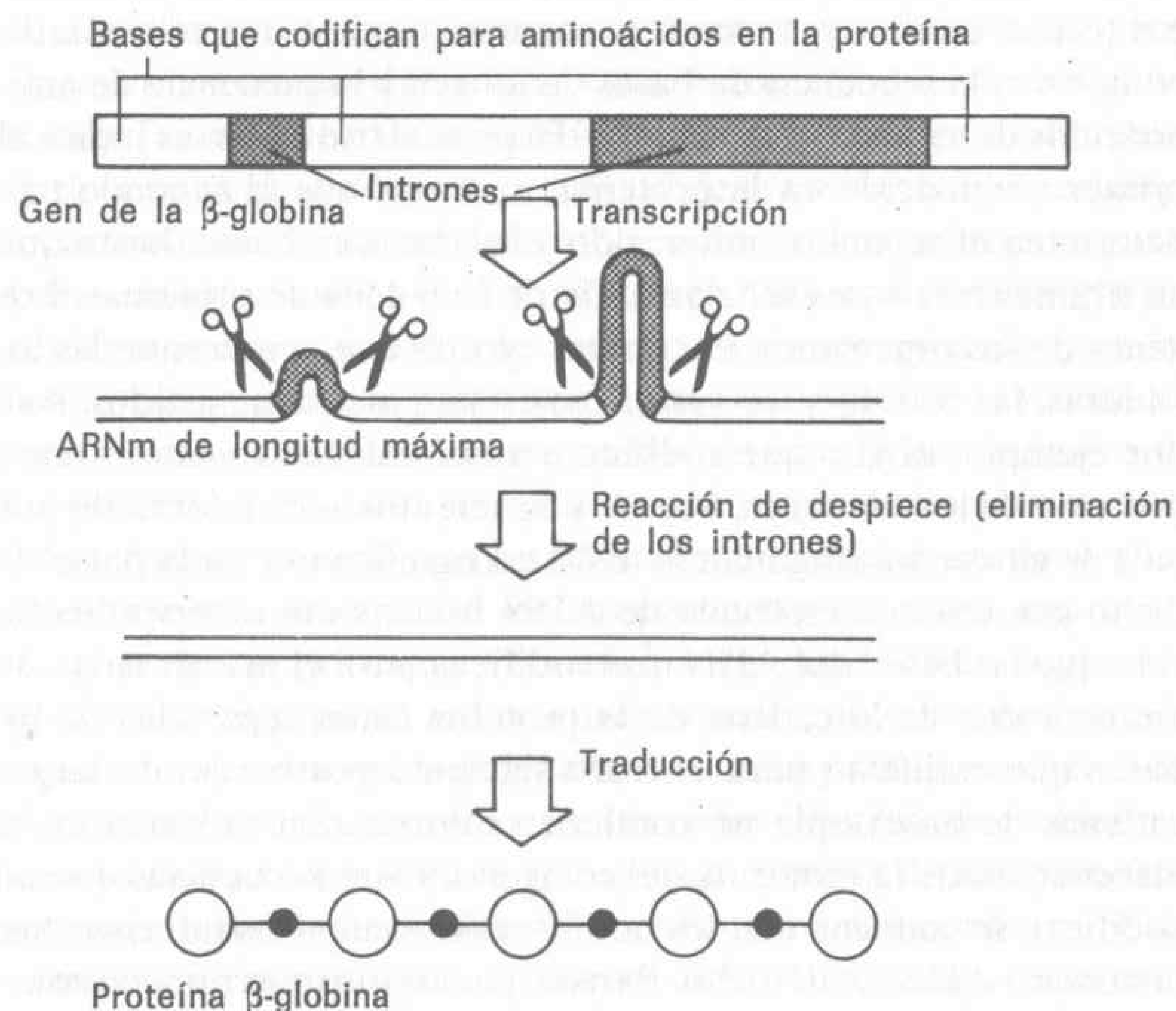


Fig. 2-10. Cuando se sintetiza por vez primera un ARNm a partir de un gen de un organismo superior, contiene copias de todos sus intrones. Antes de que se emplee el ARNm para dirigir la síntesis de una proteína, la célula elimina los intrones por un procedimiento de «despiece». El ARNm más corto así producido tiene únicamente las bases necesarias para dirigir la elaboración de una proteína. Esta forma de ARNm se utiliza para fabricar ADNc, tal como se describe en la figura 2-1.

tuviese intrones y se introdujera dicha copia en una bacteria (que carece de la facultad de eliminar los intrones), ésta traduciría el mensaje completo en una proteína extraña, mayor que lo preciso y que carecería de las mismas propiedades.

De modo que un gen de un eucariota es como un raro manuscrito: pocas páginas de prosa exquisita y a continuación falta de letras y aun de palabras antes de volver a encontrar un nuevo pasaje comprensible. De entrada se realiza una copia en ARN del texto completo y luego un editor experto descifra el jeroglífico y une de nuevo las secciones que albergan información coherente. A continuación se «lee» el libro editado en los ribosomas y se traduce a una proteína.

Esta diferencia fundamental entre la organización de los genes en los animales y en las bacterias limita muchísimo las aplicaciones biotecnológicas de los métodos denominados acertadamente de escopetazo, que comportan la fragmentación de la masa total del ADN de células humanas en miles de fragmentos por medio de enzimas de reducción. Estos fragmentos se pueden inserir en plásmidos y someterlos a clonación en la medida en que dichos plásmidos y sus hospedadores bacterianos se multipliquen, pero no se obtienen proteínas humanas adecuadas. En el mejor de los casos, el producto final es la proteína con todos los aminoácidos adecuados pero diseminados entre otros aminoácidos totalmente sin importancia.

INVENCIÓN DE GENES Y MÁQUINAS PRODUCTORAS DE GENES

Frederick Sanger y sus colaboradores de Cambridge coronaron años de trabajo al anunciar en 1953 que habían desentrañado por completo la secuencia de aminoácidos de la molécula de insulina. Era la primera vez que los científicos eran capaces de descifrar el orden de los eslabones de aminoácidos de una proteína. En la actualidad, por poco dinero se puede adquirir una máquina que realiza de modo automático los complicados y reiterados análisis necesarios para hallar la secuencia de una proteína. Con dichos analizadores de aminoácidos se descifra la composición de

una proteína en pocos días mientras que sin ellos, expertos científicos tardarían meses o años para alcanzar los mismos resultados. Cuando se conoce la secuencia de aminoácidos de determinada proteína resulta fácil —atendiendo al código genético, es decir, a qué aminoácidos especifica cada codón de tres bases— elaborar una secuencia de ADN que codifique para la proteína en cuestión (fig. 2-11).

Primera letra (o base)	Segunda letra (o base)				Tercera letra (o base)
	U	*C*	*A*	*G*	
U	*Phe*	*Ser*	*Tyr*	*Cys*	*U*
	Phe	*Ser*	*Tyr*	*Cys*	*C*
	Leu	*Ser*	*Stop*	*Stop*	*A*
	Leu	*Ser*	*Stop*	*Trp*	*G*
C	*Leu*	*Pro*	*His*	*Arg*	*U*
	Leu	*Pro*	*His*	*Arg*	*C*
	Leu	*Pro*	*Gln*	*Arg*	*A*
	Leu	*Pro*	*Gln*	*Arg*	*G*
A	*Ile*	*Thr*	*Asn*	*Ser*	*U*
	Ile	*Thr*	*Asn*	*Ser*	*C*
	Ile	*Thr*	*Lys*	*Arg*	*A*
	Met/start	*Thr*	*Lys*	*Arg*	*G*
G	*Val*	*Ala*	*Asp*	*Gly*	*U*
	Val	*Ala*	*Asp*	*Gly*	*C*
	Val	*Ala*	*Glu*	*Gly*	*A*
	Val	*Ala*	*Glu*	*Gly*	*G*

Fig. 2-11. Código genético. Cada codón (secuencia de tres bases) en el ARNm especifica determinado aminoácido (que se indica por las tres primeras letras de su nombre en inglés, tal como por convenio se designan). El código genético explicita dicha relación; así, por ejemplo, el codón UCA especifica Ser, es decir, el aminoácido serina. Tres codones significan «stop», o sea, la terminación de una cadena de proteína. Un codón, AUG, tanto puede indicar el aminoácido metionina (Met) como el inicio de una cadena proteínica.

Con otro invento, la máquina productora de genes, se pueden engarzar los eslabones del ADN según un orden específico, lo cual permite la elaboración de genes (fig. 2-12). ¡Con tales máquinas ha llegado, en el campo de los genes, la era del hágalo usted mismo! En la actualidad, las máquinas productoras de genes pueden engarzar subunidades ADN en la cadena del gen a una velocidad de veinte eslabones por hora, y este rendimiento aumenta continuamente. En 1983 se logró sintetizar un gen para la hormona del crecimiento constituido por cerca de 584 bases ordenadas de manera precisa.

Los conocimientos que se poseen acerca de la estructura de los enzimas naturales y de su modo de trabajar permite ya a los biotecnólogos inventar proteínas completamente nuevas capaces de efectuar determinadas reacciones químicas con gran eficacia. El desarrollo de las técnicas de mutagénesis dirigida no sólo permite combinar moléculas (por ejemplo, la región del reconocimiento de un anticuerpo con el sitio activo de un enzima), sino que permite también modificar los «bolsillos» de los enzimas, sus centros activos, para que actúen sobre moléculas a las que en condiciones normales no reconocerían. Las posibilidades de la biotecnología en la industria química han aumentado considerablemente al alcanzar los expertos en arquitectura molecular un conocimiento elevado de cómo sustituir los catalizadores usuales empleados en la industria por proteínas inventadas por el hombre (véase la página 63). Con las máquinas productoras de genes se prepara la información genética necesaria para inducir a los microorganismos a fabricar dichos nuevos catalizadores.

Se está empezando a utilizar en la práctica las máquinas productoras de genes. En realidad, las instrucciones genéticas para la síntesis de la insulina humana actualmente en el mercado, las han confeccionado los químicos más que extraerlas de células humanas, lo cual es también parcialmente cierto para el gen de la hormona del crecimiento humano.

La hipófisis, glandulita situada en la base del cerebro, elabora la hormona del crecimiento y la secreta y envía a todas las partes del cuerpo donde, como su nombre indica, estimula el crecimiento. Se necesitan considerables cantidades de dicha hormona para tratar determinadas formas de enanismo. Los investigadores que

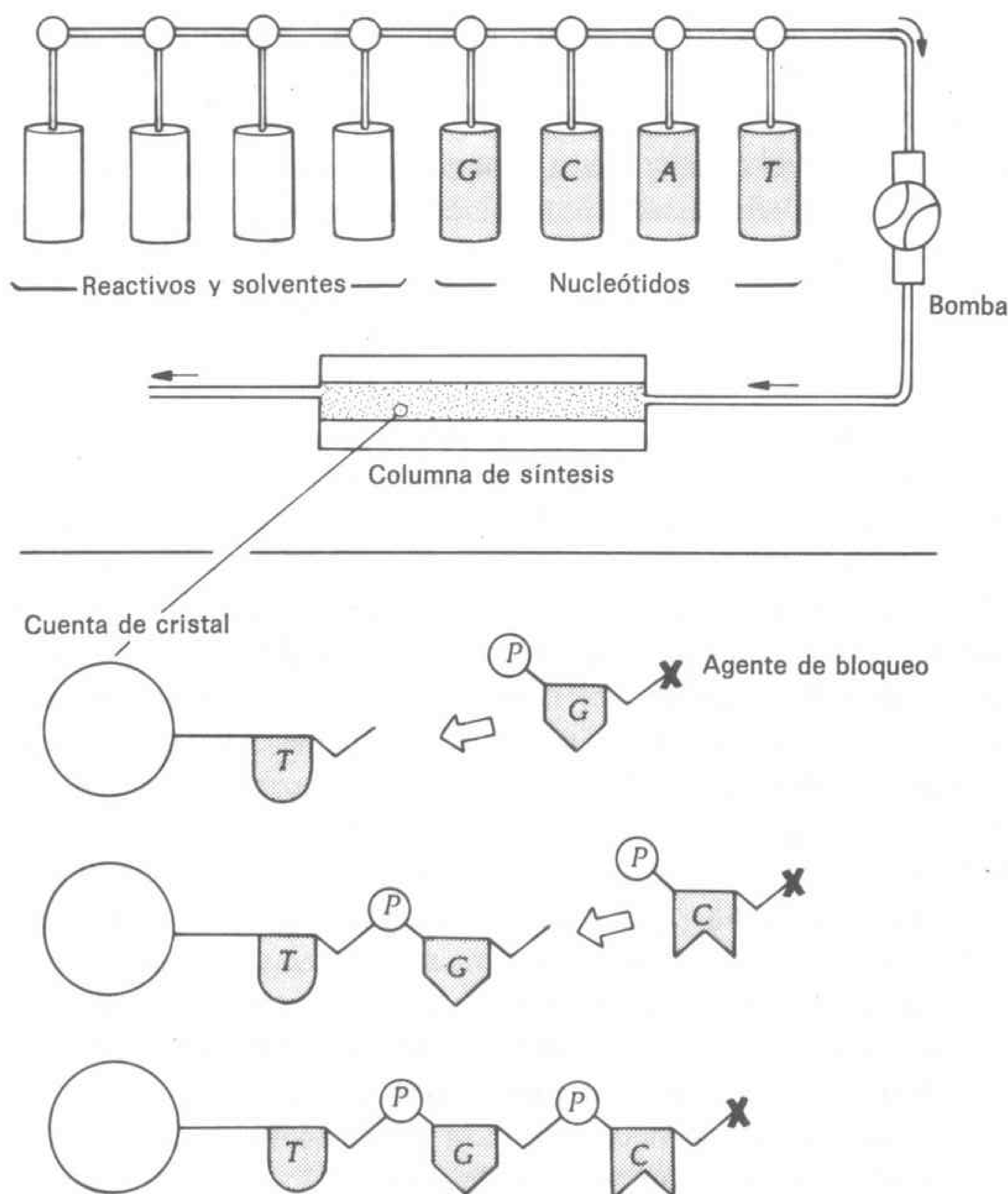


Fig. 2-12. Máquina de producir genes. Cuatro reservas, separadas, de elementos para la producción de ADN (los nucleótidos A, T, C y G) están conectados por medio de tubos a un cilindro que contiene cuentas de vidrio. Supóngase que deban sintetizarse pequeñas cantidades de nucleótidos T-G-C. Se llenará primero el cilindro de cuentas con una T engarzada y después con las bases G procedentes de la reserva. La parte derecha de cada G del esquema está modificada químicamente o bloqueada de tal manera que no puede enlazarse con ninguna otra G vecina, lo cual impide la secuencia T-G-G-... El ciclo se repite con la introducción de los nucleótidos C en el cilindro y así la secuencia T-G-C se forma sobre cada cuenta de vidrio. Conseguida la secuencia buscada, se separan las cadenas de nucleótidos de las cuentas de vidrio por medio de determinados tratamientos químicos. Todo el proceso de aporte de los productos químicos necesarios en el momento oportuno se controla con un sistema microcomputerizado.

se dedican a la ingeniería genética han intentado inducir a determinadas bacterias a elaborar dicha hormona, pero para conseguirlo han tenido que introducir ingeniosos perfeccionamientos en sus técnicas fundamentales. Dado que tales ardides suplementarios han demostrado ser muy útiles en la fabricación de distintos y valiosos materiales, merece la pena tratar de ellos algo detalladamente.

La mayor parte del ARNm para la hormona del crecimiento codifica para los 191 aminoácidos que la componen. Pero esta hormona la secretan las células de la hipófisis y para ello requieren determinado tipo de señal «para la exportación». Dicha señal consiste en veintiséis aminoácidos extraordinarios al principio de la proteína y las instrucciones para producir esta señal también se encuentran codificadas en el ARNm. Los aminoácidos de la señal se separan de la proteína cuando ésta abandona las células de la hipófisis, con lo cual dicha proteína pasa a la forma activa de la hormona. Este modo de proceder constituye un ajuste preciso y necesario en la célula humana pero origina un problema cuando se inserta el gen en bacterias. Las bacterias no entienden el significado de la señal y no eliminan los veintiséis aminoácidos supernumerarios. El resultado es una proteína demasiado larga que no ejecuta debidamente su función cuando se administra a los pacientes. Los ingenieros genéticos han confeccionado un gen parcialmente artificial que instruye a la bacteria para obtener hormona de crecimiento sin la señal (fig. 2-13). Se puede introducir este gen en un plásmido, someterlo a clonación y así producir hormona del crecimiento humano.

Tanto este tipo de problema como esta clase de solución se plantean a menudo en ingeniería genética, en particular si el blanco es una hormona, ya que todas las hormonas se secretan o «exportan» fuera de las células que las elaboran y, por tanto, presentan algún tipo de señal. En el caso de la insulina es aún algo más complicada, pero también aquí las máquinas productoras de genes proporcionan la solución.

El ARNm para la insulina tiene mayor grado de perfeccionamiento, pues no sólo contiene una secuencia que codifica para la señal de exportación al principio de la proteína sino que también codifica para un fragmento central de treinta y cinco aminoácidos que posteriormente se separa y elimina. Las células pancreáticas

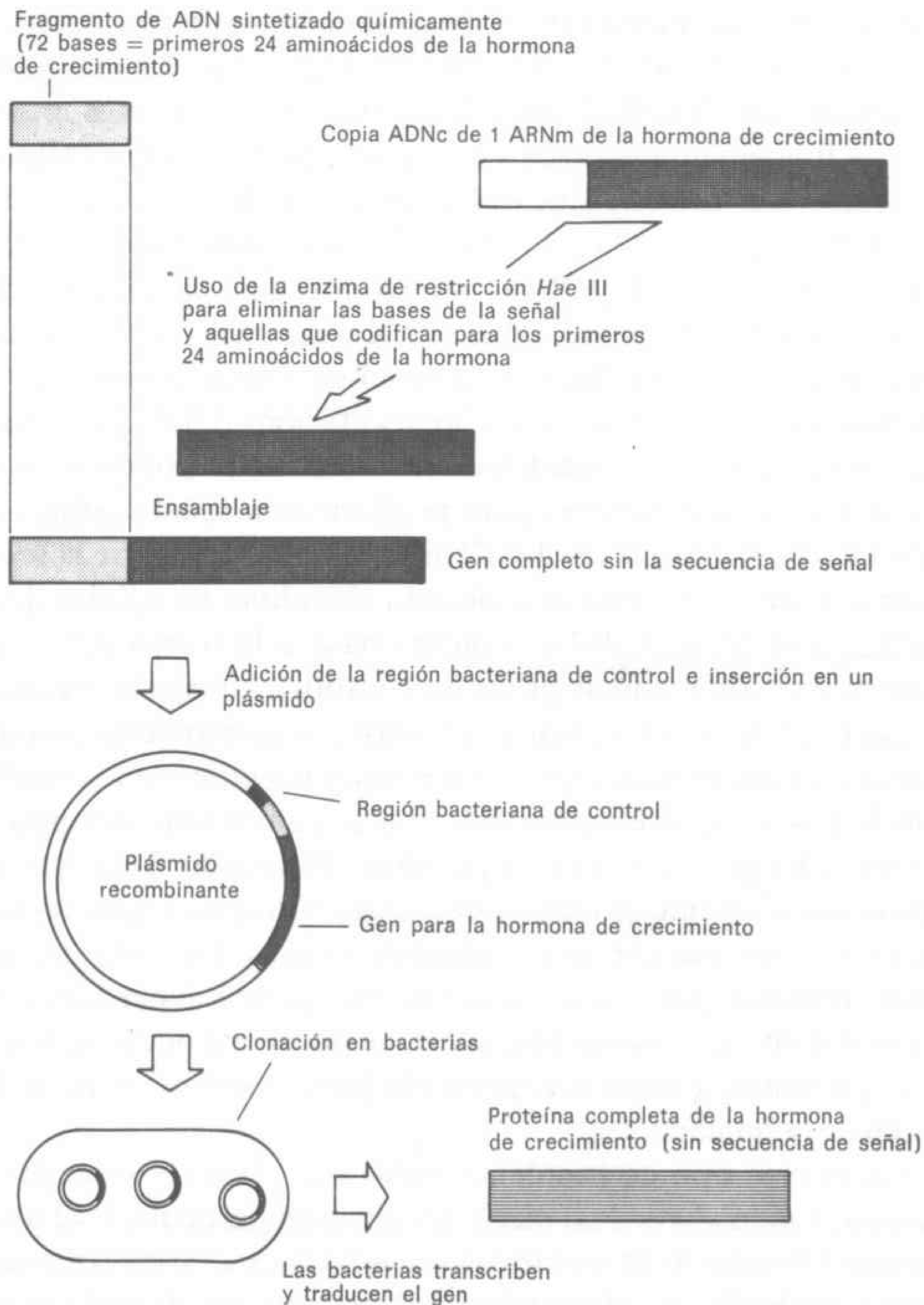


Fig. 2-13. Ensamblaje del gen para la hormona del crecimiento humano. En primer lugar se obtiene una copia de ADNc del ARNm para la hormona del crecimiento más la señal. Teóricamente, la ingeniería genética debería permitir cortar el gen exactamente por el lugar correspondiente a la separación entre la hormona y la señal, pero no se conoce ningún enzima de reducción que corte el ADN en este punto. En su lugar se emplea el enzima de reducción *Hae* III, que corta cincuenta bases del ADNc que corresponden a veintiséis aminoácidos no deseados más veinticuatro aminoácidos de la hormona propiamente dicha. Después se reemplaza la información genética que falta por síntesis del fragmento en una máquina de producir genes y se adhiere al gen decapitado.

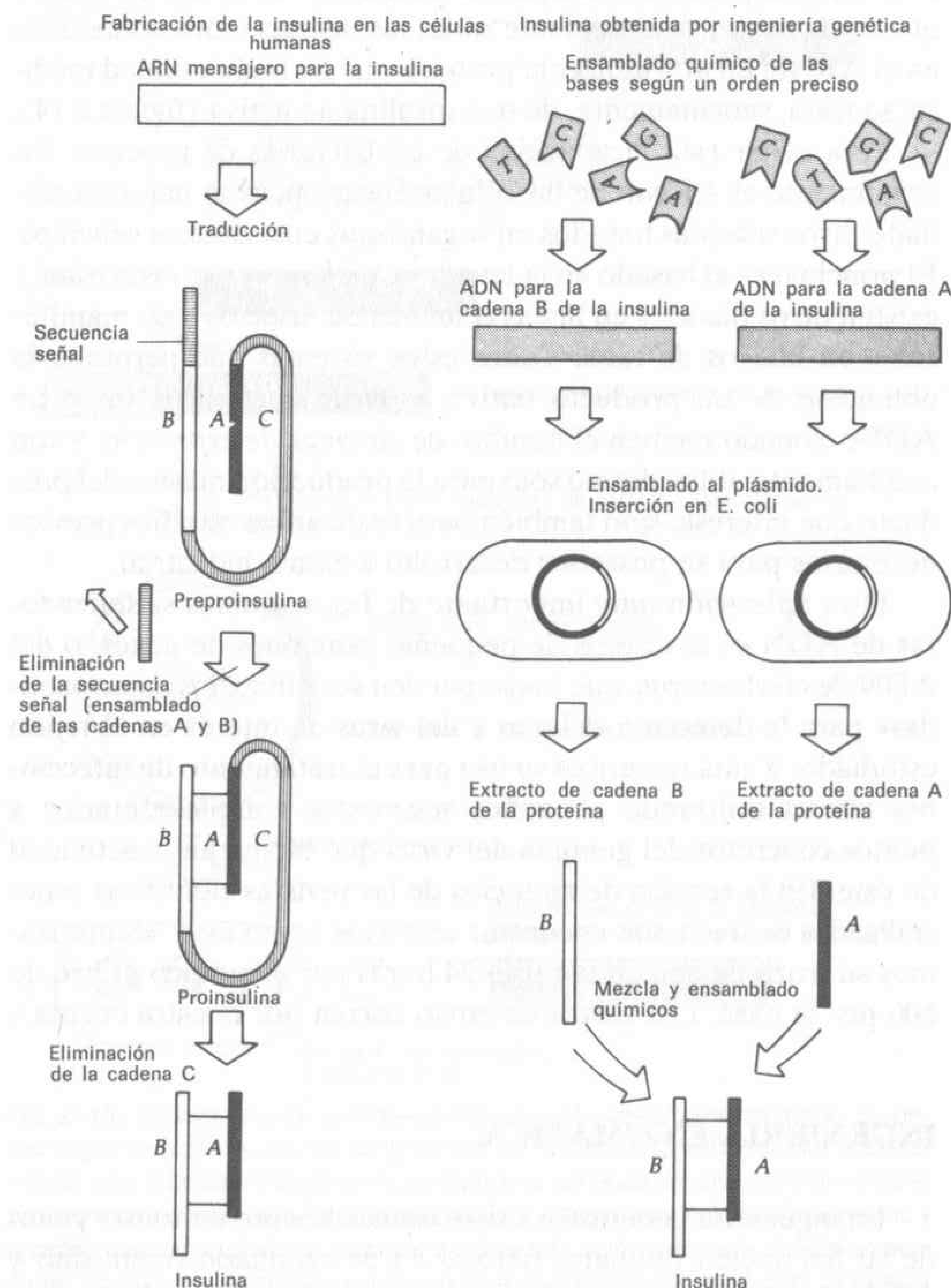
humanas pueden preparar la insulina a partir de la proteína preproinsulina sintetizada de acuerdo con las instrucciones contenidas en el ARNm, pero las bacterias son totalmente incapaces de ello, ya que traducen meticulosamente todas las instrucciones contenidas en el ARNm en una molécula proteica que no tiene utilidad médica; se trata, sencillamente, de una insulina no activa (figura 2-14).

Para evitar esta incapacidad de las bacterias de procesar correctamente el ARNm de las células eucarióticas se han desarrollado otros sistemas basados en organismos eucarióticos sencillos. El principal es el basado en la levadura *Sacharomyces cerevisiae,* y existen otros basados en líneas celulares de insectos y de mamíferos y en huevos de rana. Todos estos sistemas que permiten la obtención de un producto nativo a partir de un ARNm o un ADNc clonado reciben el nombre de *sistemas de expresión,* y son ampliamente utilizados no sólo para la producción masiva del producto que interesa, sino también para realizar los estudios previos necesarios para su posterior desarrollo a escala industrial.

Otra aplicación muy importante de las máquinas sintetizadoras de ADN es la síntesis de pequeñas porciones de genes, o del ADN de ciertos virus, que luego pueden ser utilizados como «sondas» para la detección del gen o del virus de interés en el tejido estudiado. Y una tercera es su uso para el tratamiento de infecciones víricas utilizando pequeños segmentos complementarios a puntos concretos del genoma del virus que bloquean la actividad de éste. En la sección de anuncios de las revistas científicas especializadas es frecuente encontrar anuncios como éste: «Sintetizamos su trozo de gen en tan sólo 24 horas por el módico precio de 500 pts. la base. Los gastos de envío corren por nuestra cuenta.»

INGENIERÍA ENZIMÁTICA

La ingeniería genética consiste esencialmente en tomar genes de su habitación biológica natural en determinado organismo y colocarlos en otros. De ordinario, dichos genes no se modifican en sí mismos, excepto cuando es necesario retocarlos para asegurar que el nuevo organismo hospedador pueda utilizar la información genética que contienen y elaborar la proteína correspondiente. El



concepto que entraña el término ingeniería enzimática es algo distinto. Es indudable que la mayoría de los enzimas que existen en la naturaleza están magníficamente adaptados a sus funciones características en los organismos, pero resulta que con frecuencia pueden no estarlo por completo para determinadas aplicaciones prácticas de invención humana. Un simple, aunque importante, ejemplo lo constituye el enzima subtilisina, que interviene en la digestión de proteínas, producido por la bacteria *Bacillus subtilis.* Este enzima se emplea actualmente en los detergentes «bioactivos», aunque necesita temperaturas relativamente altas para trabajar con eficacia. Con la reciente tendencia hacia el empleo de temperaturas más bajas en el lavado de la ropa, resulta clara la necesidad de un enzima que actúe más enérgicamente a temperaturas próximas a los 40 °C.

Puesto que las propiedades de un enzima dependen tanto de la secuencia de aminoácidos que constituyen su molécula como de la configuración tridimensional que éstos adoptan, debería ser posible, por lo menos en teoría, recomponer la configuración de un enzima para alterar su temperatura de trabajo óptima u otra cualquiera de sus propiedades. Es posible modificar enzimas sometiendo la versión original a determinados tratamientos químicos con el fin de efectuar los cambios moleculares necesarios. Pero un método más prometedor y generalizable consiste en tomar el gen natural y efectuarle pequeñas modificaciones, ya que cuando se

◀ **Fig. 2-14.** Ingeniería genética de la insulina. El ARNm de la insulina humana codifica para cuatro grupos distintos de aminoácidos *(arriba, a la izquierda):* las cadenas A, B y C más la secuencia señal. Cuando se traduce el ARNm a proteína —preproinsulina— contiene las cuatro partes. Para obtener insulina activa, las células pancreáticas humanas eliminan, en primer lugar, la señal para producir proinsulina y posteriormente la cadena C, uniendo las dos cadenas que permanecen, A y B, para formar la insulina propiamente dicha. Las bacterias son incapaces de realizar este proceso de escisión y ensamblaje. La producción de insulina por medio de la ingeniería genética no puede empezar, por tanto, a partir del ARNm para la insulina sino a partir de fragmentos de ADN sintetizados químicamente, que sólo codifican para las cadenas A y B. El gen sintético para la cadena A se insiere en un lote de bacterias mientras que el gen sintético para la cadena B se introduce en un segundo lote. Se extraen de las células de *E. coli* las cadenas A y B que de este modo pueden producirse y posteriormente se mezclan y unen químicamente para crear copias exactas de las moléculas de la insulina humana.

introduce el enzima modificado en una bacteria se sintetiza directamente.

Una de las maneras más eficaces de realizar pequeños cambios de la estructura de los genes implica la utilización de una técnica denominada mutagénesis puntual dirigida. Antes de hablar de estas estratagemas utilizadas en las recomposiciones moleculares será de utilidad examinar la génesis de las ideas de los biotecnólogos acerca de cómo alterar la estructura de los genes.

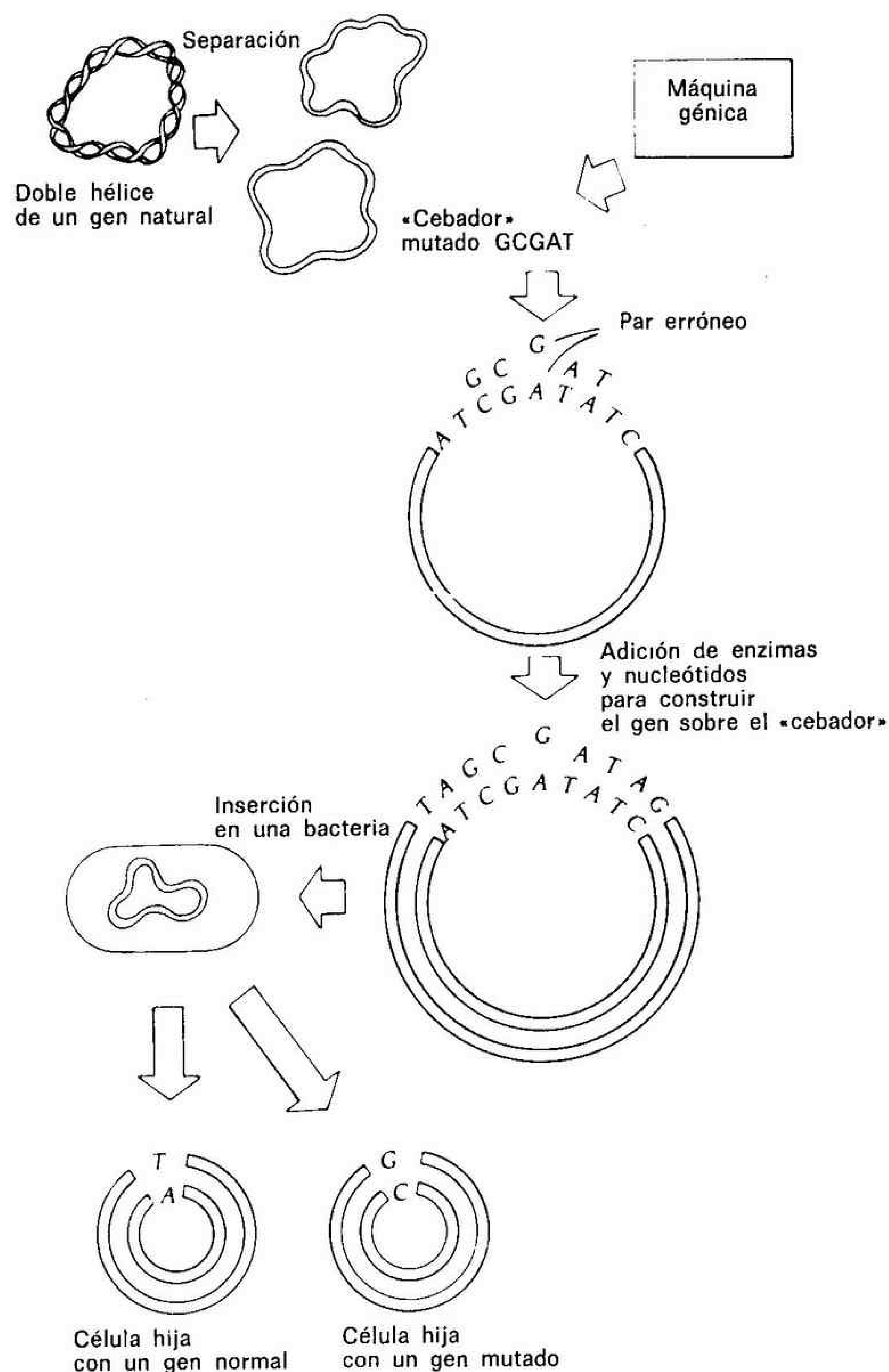
En la actualidad resulta relativamente trivial, cuando no tedioso, conocer qué aminoácidos constituyen determinado enzima y de qué manera están enlazados, aunque ya no resulta tan sencillo descubrir qué configuración tridimensional adopta la cadena de aminoácidos y llega a ser complicadísimo desentrañar de qué modo las propiedades enzimáticas de la molécula (por ejemplo, su facultad de digestión de proteínas) están relacionadas con su composición y con su configuración, aunque actualmente se avanza en la resolución de estos formidables problemas.

Los biotecnólogos han establecido programas de computador que les ayudan a predecir qué tipo de configuración tridimensional adoptará determinada cadena de aminoácidos y, lo que es más importante, los cristalógrafos, mediante rayos X, pueden actualmente y a menudo deducir la forma de un enzima. La cristalografía de rayos X es una rama de la ciencia muy complicada, que en esencia consiste en bombardear una muestra de determinada sustancia con rayos X y en examinar los caminos seguidos por los rayos que «atraviesan» la muestra. A partir de un cúmulo aparentemente sin sentido de manchas y puntos en una película fotográfica suele ser posible, utilizando las leyes de la física (y una potente computadora electrónica), inferir de qué modo están ordenadas las moléculas en la muestra en cuestión.

Investigada la estructura de determinado enzima, científicos de diversas disciplinas participan en el proceso de decidir cómo se debería modificar. Los químicos y los bioquímicos tienen un papel importante, de la misma manera que los expertos en una nueva técnica conocida con el nombre de diseño gráfico por computador. Utilizando computadores y pantallas de monitor semejantes a las empleadas por los proyectistas de automóviles es posible realizar una representación tridimensional de la estructura de un enzima y calcular de qué modo pequeños cambios de su estructura afectarían a sus propiedades.

Esta rama de la ciencia y la técnica se encuentra todavía en mantillas, aunque la mayor parte de los biotecnólogos se sienten atraídos por ella a medida que se va desarrollando. Se han modificado ya diversos enzimas muy específicamente y tales experimentos han proporcionado muchos datos acerca del modo de actuar de los enzimas. Hasta el momento no ha sido posible incrementar la eficacia de ningún enzima de importancia industrial, pero los instrumentos están ya disponibles y en un plazo de cinco o diez años se podrá estimar la repercusión causada por enzimas producidos así. Dos ejemplos de lo conseguido hasta ahora muestran algo del valor de dicha técnica. Científicos procedentes de dos laboratorios británicos —el Imperial College, de Londres, y el Laboratory for Molecular Biology, de Cambridge— han modificado un enzima que interviene en la descodificación de la información genética y en la elaboración de las proteínas. Dicho enzima, la tirosil ARNt sintetasa, suele presentar la propiedad de unirse de manera muy específica con una molécula del aminoácido tirosina, pero tras haber efectuado aquellos científicos un pequeño cambio en su estructura se aumenta la facultad de este enzima para unirse con otro aminoácido distinto, la fenilalanina. Por su parte, investigadores de diversos laboratorios de California se enfrentaban con otro problema: trazar la red molecular de una forma modificada de insulina*. Cuando la insulina se sintetiza en las células humanas contiene una cadena de treinta y cinco aminoácidos, denominada cadena C, que ayuda a que la molécula se pliegue correctamente y permite la unión entre las cadenas A y B, lo cual posibilita la existencia de la insulina activa. (Después, esta cadena C se separa y elimina; véase el capítulo II, figura 2-14, página 65.) Los científicos norteamericanos sustituyeron la cadena C por una versión más corta formada únicamente por seis aminoácidos. La molécula resultante, llamada proinsulina mini-C, se comporta en buena medida como su homólogo natural.

* La insulina es una hormona y no un enzima, aunque los principios generales para modificar una proteína son los mismos, con independencia de si es un enzima u otro tipo de proteína.



Sin duda, conlleva trabajo decidir cómo modificar una proteína, pero existe, por descontado, otro problema también importante: cómo elaborar la proteína modificada.

En el caso de la proinsulina mini-C se eliminó la información genética para la cadena C normal del gen para la insulina y se sustituyó por una cadena de nucleótidos, sintetizada químicamente, que codifican para la cadena mini-C. A continuación se introdujo el gen alterado en bacterias que comenzaron a elaborar la nueva proteína.

La mutagénesis puntual dirigida (fig. 2-15), utilizada por los científicos británicos que modificaron la tirosil ARNt sintetasa, es una técnica más eficaz y universal. Como su propio nombre indica, consiste en alterar (mutar) un gen en un punto muy específico, de modo que la proteína elaborada de acuerdo con las instrucciones contenidas en el gen mutado será ligeramente distinta de su versión natural. El gran valor de esta técnica estriba en que por larga que sea la secuencia de un gen, es posible modificar los fragmentos del mismo que se deseen, obteniendo así proteínas con nuevas propiedades.

La técnica de la mutagénesis puntual dirigida fue desarrollada por el canadiense M. Smith y sus colaboradores de la Universidad de Vancouver, y por estos trabajos recibió en 1993 el premio Nobel de Química. Dicha técnica se emplea en la actualidad con mucha frecuencia en los laboratorios de biotecnología. Una línea de investigación en la que se está empleando es la creación de mo-

◀ **Fig. 2-15.** Mutagénesis puntual dirigida. Se separan los dos filamentos de la doble hélice de un gen normal. La corta secuencia de nucleótidos (un cebador), que se corresponde con una parte de la cadena de proteína alterada, se prepara con ayuda de una máquina de producir genes. Dicha secuencia artificial es complementaria de la secuencia natural excepto en un «error» específico (G sustituye a T que normalmente se inseriría frente a A en un gen natural), y puesto que son casi complementarios, las dos secuencias encajan. El resto de la secuencia del gen natural (que no se alterará) se elabora a partir del cebador, con ayuda de enzimas que actúan según las instrucciones contenidas en el filamento del gen normal. La doble hélice resultante, que contiene un filamento génico natural y otro mutado, se insiere en una bacteria. Cuando la bacteria crece y se divide, produce un gen de doble hélice para cada célula hija. Una célula hija recibe un gen copiado a partir del filamento normal, mientras que la otra recibe un gen copiado a partir del filamento mutado y producirá, por tanto, la proteína mutada.

léculas híbridas contra células cancerosas. En dichas moléculas se une la porción de un anticuerpo que reconoce a un antígeno de la célula cancerosa con un enzima capaz de destruir dicha célula. Este tipo de «balas mágicas» están siendo ya probadas en pacientes con tumores malignos.

Es demasiado pronto para predecir en qué manera repercutirá la ingeniería enzimática en la biotecnología en general, aunque un tercer ejemplo proporciona algunas pistas. La talasemia es una enfermedad de la sangre grave, que afecta a las personas que presentan una mutación en sus genes para la proteína hemoglobina (véase la página 142). Sus genes difieren de los normales únicamente por una mutación, la cual origina la formación de un codón de parada (grupo de tres nucleótidos) en el lugar de un codón para un aminoácido, de modo que la maquinaria celular de síntesis de proteínas cesa de trabajar antes de que se haya producido toda la molécula de hemoglobina. La hemoglobina resultante truncada (e inactiva) no puede desempeñar su función de transporte de oxígeno por el cuerpo. Aquí, la mutagénesis puntual dirigida se puede utilizar para corregir dicho defecto en el gen, por lo menos en experimentos de laboratorio que utilizan genes aislados en tubos de ensayo. En realidad y como quiera que esta técnica se usa en este caso para corregir una mutación preexistente, debería llamarse con mayor propiedad «desmutagénesis» puntual dirigida.

En este capítulo se han considerado algunos de los poderosísimos e ingeniosos instrumentos con que cuenta el mundo de la ingeniería genética. Actualmente está abierta la vía para la introducción de virtualmente cualquier clase de gen en bacterias y otros microorganismos, con lo cual se les da la facultad de producir materiales de gran valor en medicina y agricultura, así como para las industrias alimentaria y química, y la obtención de nuevas fuentes de energía.

MAPAS GENÉTICOS Y SECUENCIAS DE GRANDES GENOMAS

Cuando se corta un ADN grande como el de los cromosomas humanos con enzimas de restricción, se obtienen colecciones extremadamente complejas de fragmentos. Las mezclas son tan complejas que si se examina una separación por tamaño de sus componentes es imposible distinguir una banda mayoritaria, ya que el ADN se fragmenta en trozos de todos los tamaños posibles. Sin embargo, si se dispone de una *sonda* específica (un trozo de ADN marcado, habitualmente con algún isótopo radiactivo), es posible identificar dentro de la colección a la banda o bandas que contienen el segmento complementario a la sonda utilizada. Como no hay dos genomas que sean iguales, la digestión de dos ADN humanos con un enzima de restricción produce invariablemente dos colecciones distintas de fragmentos. Si la sonda utilizada corresponde a una región variable (polimórfica), el patrón de bandas obtenido tras la hibridación será distinto en uno u otro caso. El análisis de los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción o PLFR permite detectar una especie de «huella dactilar» genética. Cada individuo tiene una característica. La huella dactilar genética comienza a ser utilizada en casos de paternidad dudosa y para la identificación de presuntos delincuentes. Además, todas las enfermedades hereditarias y muchos tipos de cáncer son producto de la alteración de la secuencia del ADN de algún gen, por lo que es probable que las personas afectadas presenten un polimorfismo característico.

A partir de 1989 se ha establecido una auténtica carrera para asociar polimorfismos y enfermedades hereditarias o fases de desarrollo de procesos cancerosos. Las sondas utilizadas ya no necesitan ser de genes conocidos. Basta con que un trozo de ADN se herede siguiendo el mismo patrón que la enfermedad para que la detección del polimorfismo tenga un cierto valor de diagnóstico. No es tan siquiera necesario que la modificación del ADN asociada a la enfermedad afecte al propio gen; sólo hace falta que esté tan próxima que sea muy poco probable que se separe durante el proceso de recombinación asociado a la meiosis de las células germinales. De esta forma, en la actualidad se están analizando PLFR utilizando «sondas anónimas» de ADN. Dichas sondas son fragmentos de ADN de los que lo único que se sabe es que la banda de PLFR que identifican se hereda igual que la enfermedad, o aparece siempre en una fase determinada de un proceso canceroso.

El conjunto de marcadores genéticos como los PLFR o las mu-

taciones que nosotros detectamos como enfermedades genéticas nos permiten elaborar el *mapa genético* de una especie. Pero el mapa genético del ser humano todavía es muy incompleto. Se calcula que el genoma de nuestra especie consta de entre 50.000 y 100.000 genes. La misma indefinición de este número ya nos da idea de nuestra ignorancia. Al iniciarse la década de los noventa se habían detectado unas 5.000 mutaciones distintas en individuos humanos, es decir, se conocían este número de genes por sus efectos en los individuos. Y el número de genes de los que se conocía su secuencia de nucleótidos era de sólo unos pocos centenares, aunque su crecimiento empezaba a ser exponencial. Varios científicos pensaron que había llegado ya el momento de obtener la secuencia completa del genoma humano.

De hecho la idea estaba ya sobre el tapete desde hacía tiempo. Por una parte se estaba completando la secuenciación completa del genoma de un organismo muy sencillo, *Escherichia coli.* Por otra parte, se conocían ya marcadores situados a distancias relativamente pequeñas en todos los cromosomas humanos. El paso siguiente era aislar e identificar los fragmentos de ADN de los distintos cromosomas. Para llevar a cabo esta tarea se descubrieron unas nuevas herramientas, los *YAC.* YAC es la sigla formada con las iniciales de *yeast artificial chromosome* (cromosoma artificial de levadura), porque dicha técnica se basa en el aislamiento de los elementos que estabilizan los cromosomas de las levaduras. Una vez aislados, es posible unir estos elementos con un ADN cualquiera; entonces la levadura identifica esta construcción como un cromosoma propio, de forma que en clones de este organismo hay fragmentos de ADN de otra especie. La ventaja de los YAC es que admiten ADN de gran longitud —hasta un cuarto de millón de pares de bases o incluso más—. De esta forma, en unos pocos miles de YACs será posible tener todo el genoma humano. Si además se consigue clasificarlos y colocarlos en el mapa, habremos dado un gran paso para el aislamiento de cualquier gen humano.

El análisis de genomas completos se ha convertido en una de las grandes novedades de la década de los noventa. Ya se ha publicado la secuencia total de un cromosoma de levadura, y se han iniciado los proyectos de secuenciación del gusano *Caenorhabditis elegans* y de la mosca *Drosophila melanogaster,* especies de las que

se dispone de una información genética muy importante. También se ha iniciado la secuenciación completa del genoma de una planta, *Arabidopsis thaliana,* que es uno de los más pequeños conocidos entre los genomas de los organismos superiores (sólo unos 100 millones de pares de bases). Evidentemente, estos proyectos sólo tienen sentido en el marco de una colaboración entre muchos laboratorios, y con frecuencia a nivel internacional. No hay duda del enorme interés que puede tener toda esta información para identificar los genes importantes en los organismos. Sin embargo, en la mayor parte de los casos subsistirá el problema de cómo interpretar esta masa ingente de secuencias. Hay aquí un reto para el próximo siglo en el que la informática será una pieza clave.

III. FERMENTACIÓN Y SELECCIÓN: PONER LOS MICROBIOS A TRABAJAR

Para el estudio de la estructura, el metabolismo o la información genética de los microorganismos, los científicos raramente necesitan disponer de grandes cantidades de ellos. Basta, por lo general, con un frasco de un litro de nutrientes y microbios en suspensión. La biotecnología, por el contrario tiene que fabricar grandes cantidades de materiales valiosos, mayores que las que puedan elaborar los microbios más productivos cuando crecen en condiciones de laboratorio. Para realizar un proceso biotecnológico eficaz y económico se requiere, a menudo, cambiar de escala de modo que puedan crecer en grandes tanques metálicos. Todas las investigaciones efectuadas por biólogos que han descubierto microorganismos útiles o por ingenieros de genética que han inventado otros nuevos tendrían escasa importancia en biotecnología si no fuera por los procesos de fermentación.

Cuando una palabra tiene dos significados, uno científico y otro popular, el primero suele ser más preciso y específico. El término fermentación constituye una excepción a esta regla. En biotecnología, este término se aplica a cualquier proceso en que se cultivan microorganismos en grandes cantidades para producir algún tipo de sustancia, y no necesariamente alcohol como en la acepción común y limitada del término.

El éxito en biotecnología depende principalmente tanto de la elección del microorganismo más indicado para procesos de fermentación en gran escala como de la elección del que produce la mayor cantidad del producto requerido.

Aunque el término biotecnología no se había aún acuñado en aquella época, el descubrimiento y el desarrollo de la penicilina contiene muchos de los más importantes elementos que caracteri-

zan la biotecnología actual. La historia acerca de las circunstancias que rodearon el descubrimiento de la penicilina y de cómo llegó a ser el primer antibiótico fabricado en cantidades suficientes para salvar la vida de millones de personas, se utiliza, por aquel motivo, para ilustrar los principios generales de la selección y la fermentación.

En 1928, Alexander Fleming trabajaba en el Hospital St. Mary de Londres, donde dedicaba buena parte de su tiempo a estudiar el crecimiento bacteriano en pequeñas cápsulas de vidrio, en su no muy limpio laboratorio. Un día de septiembre observó que una cápsula había sido contaminada por un moho, el *Penicillium notatum*. Lo que realmente le sorprendió fue que no había crecimiento bacteriano en los alrededores del moho (lámina 4). Fleming supuso, acertadamente, que el moho había secretado una sustancia que inhibía el crecimiento de las bacterias y la denominó penicilina. Fleming no se detuvo en esta observación y prosiguió con nuevas pruebas. Realizó otros experimentos para confirmar sus hallazgos y demostró que aquella sustancia no resultaba tóxica para el ratón. No intentó, sin embargo, purificar el ingrediente activo de la mezcla de materiales obtenidos a partir del moho ni verificó los efectos curativos de dicha materia en el ratón.

Al descubrir que cierto tipo de mohos elaboran algunas sustancias que matan las bacterias, Fleming aportó el primero y fundamental componente de la mayor parte de las biotecnologías: realizó un importante descubrimiento científico acerca de una propiedad de un ser vivo. En el transcurso de un decenio el clima estuvo maduro para tener en consideración sus ideas y ponerlas en práctica. Sin lugar a dudas, los cambios en las actitudes científicas espolearon el desarrollo de la penicilina como medicamento, pero otros dos factores tuvieron también gran influencia: el desencadenamiento de la segunda guerra mundial acrecentó la necesidad de obtener un antibiótico eficaz para tratar las heridas y, por otro lado, el entusiasmo con que un grupo de científicos y técnicos de diversas disciplinas acogieron el proyecto.

Tres ramas principales de investigación y desarrollo se entrecruzan en la historia de la penicilina. En primer lugar, debe disponerse del mejor tipo de moho, ya que el utilizado en la producción de la penicilina en gran escala tiene que fabricarlo en la mayor cantidad posible y se ha de poder recoger fácilmente en grandes cantidades. En segundo lugar, se requieren métodos para separar la penicilina de las demás sustancias producidas por el moho. En tercer lugar, resulta necesario proyectar tanques donde pueda crecer el moho y de los cuales sea posible recuperar la valiosa producción de penicilina.

Howard Florey, Ernst Chain y sus colaboradores dieron los primeros pasos para el desarrollo de la penicilina en Oxford. Empezaron a trabajar en 1938, pero en 1940 algunos científicos norteamericanos ya participaban en esta investigación y, en total, llegaron a tomar parte en ella varios centenares de científicos en treinta laboratorios. Emprendieron su tarea con tal entusiasmo y especialización que en 1944 se disponía ya de la suficiente penicilina para tratar a todos los combatientes norteamericanos y británicos heridos graves durante la invasión de Europa.

Las muestras del moho que habían llamado la atención de Fleming se conservaban vivas en el Hospital St. Mary. Dicho moho, por desgracia, no produce demasiada penicilina, por lo que hubo que buscar otros mohos ligeramente distintos que pudieran elaborar más cantidad de ella. En 1951 fue posible obtener 60 miligramos de penicilina de un matraz de un litro de capacidad lleno de nutrientes y mohos. Desde entonces, la introducción de nuevas mejoras permitirían obtener 20 g de pencilina a partir del mismo volumen inicial de cultivo: diez mil veces más que la cantidad que podía producir el laboratorio de Florey.

Nuevas y complejas técnicas de separación de la penicilina de la masa de los demás materiales de los matraces desempeñaron un papel fundamental en aquellas notables mejoras, pero de la misma manera igual eficacia se derivó del trabajo y de aquellos científicos que intentaban mejorar la levadura. Aquí y en general en biotecnología, la utilización del término «mejora» o «mejorar» es obviamente antropocéntrica: significa que determinada característica de algún organismo, en este caso la producción de penicilina, se ha modificado de acuerdo con los propósitos del hombre. Es improbable que el cambio constituya un beneficio directo para el organismo en cuestión, ya que un moho capaz de producir la suficiente penicilina para exterminar las bacterias

que le rodean no gana nada aumentando la escala submicroscópica de sus defensas hasta una en que puede matar diez veces más bacterias (lámina 5). Los biotecnólogos deben crear un ambiente artificial que estimule los organismos a producir en exceso (desde el punto de vista del hombre) los materiales que éste necesita.

Cabe catalogar las técnicas para mejorar un organismo en dos amplias categorías: la ingeniería genética, por un lado, que obviamente no se conoció hasta 1970, y las técnicas tradicionales, por otro, que desempeñaron un papel crucial en el caso de la penicilina y continúan representándolo actualmente en muchos campos de la biotecnología. A diferencia de la ingeniería genética, en que las características deseables pueden inserirse en un organismo de manera relativamente controlada, las técnicas tradicionales para la mejora de organismos están relacionadas, en la mayoría de los casos, con procedimientos aleatorios mediante pruebas con los materiales que la naturaleza proporciona. Ello no significa que el papel de los científicos se reduzca a ser simples observadores de las actividades de la naturaleza, que toman, sencillamente, lo que ella realiza ciegamente. El hombre, y no la naturaleza, es quien escribe las reglas de este juego evolutivo.

La clave para poder encontrar los organismos más adecuados para determinada aplicación reside en la existencia de variaciones en la naturaleza. No todos los individuos de una misma especie son idénticos. Resulta posible darse cuenta de ello observando los animales y las plantas del entorno. Las variaciones también se dan en los microbios y en mayor extensión. El aspecto de dos gatos puede diferir considerablemente, pero su bioquímica es muy semejante. Para vivir, ambos necesitan las mismas sustancias en su alimento, en iguales proporciones de principios nutritivos y en casi las mismas cantidades. La variación entre dos microbios de la misma especie es probablemente mucho mayor. Si dichas diferencias tienen suficiente interés y son claramente definidas, se dice que constituyen dos cepas distintas de la especie.

Los primeros investigadores de la penicilina buscaron entre muchos individuos del moho *Penicillium* para tratar de encontrar alguna cepa que produjera mayor cantidad de penicilina. Esta investigación tuvo gran éxito pero comportó muchísimo, esmerado

y tedioso trabajo. Se recogieron muestras de moho de todas las procedencias posibles (una de las mejores se encontró en un melón procedente del mercado de Nueva Jersey). Se cultivaron muestras de cada moho en el laboratorio y después se analizaron respecto a la cantidad de antibiótico que producían. Fue inmenso el trabajo que esto, en gran escala, supuso, pero la recompensa, cuando llegó, fue mayor aún.

Cuando se hubo descubierto la cepa prometedora de *Penicillium,* los científicos trataron de mejorarla aún más induciendo mutaciones en su organismo. Las diferencias entre las distintas cepas de *Penicillium,* incluida su facultad de producir penicilina, provienen de que cada una presenta paquetes de instrucciones genéticas ligeramente distintas. Una mutación consiste sólo en un cambio de la dotación genética normal de un organismo. Las mutaciones ocurren de manera bastante natural y, en realidad, sin ellas sería imposible la evolución, ya que la selección natural actúa en las ligeras variaciones entre los individuos de una misma especie. Algunas mutaciones resultan inmediatamente letales para el organismo que las sufre: otras, poco numerosas, son beneficiosas, y unas terceras, más o menos neutras y no dan al organismo en cuestión ventajas o desventajas claras.

Las mutaciones naturales no ocurren a menudo. En la búsqueda de un microorganismo más útil para el hombre, cabe aumentar la frecuencia de mutación ampliando, por ejemplo, la variedad de cepas y de especies disponibles. A la biotecnología le tiene sin cuidado que la mayoría de los mohos no sobrevivan si se consigue el objetivo: en este caso, mayor producción de penicilina.

En 1951 se desechó el moho original de Fleming, el *Penicillium notatum,* como potencial fuente de penicilina en gran escala, y se sustituyó por una especie similar: el *Penicillium chrysogenum.* Los científicos empezaron de inmediato a buscar la cepa más adecuada de esta especie y para aumentar la producción natural de mutaciones trataron el moho con rayos X, rayos ultravioleta y el venenoso gas mostaza. Estos enérgicos tratamientos causaron mutaciones y, ocasionalmente, condujeron a cepas mejoradas, que se sometían a nuevas series de experimentos, y con unos veinte pasos de esta naturaleza se creó la cepa que se utiliza comercialmente en la actualidad.

DEL LABORATORIO A LA INDUSTRIA: TRANSICIÓN DELICADA

En sus investigaciones para encontrar las mejores cepas de *Penicillium,* los científicos cultivaron a menudo el moho en pequeños recipientes de vidrio o de porcelana. A tan reducida escala no es posible producir la suficiente penicilina para tratar el ingente número de pacientes que podrían beneficiarse de este medicamento. Para satisfacer la creciente demanda de penicilina, las empresas farmacéuticas han instalado gigantescos tanques metálicos de capacidades superiores a los 100.000 litros (lámina 6).

Para proyectar procesos de fermentación óptimos, los biotecnólogos deben prestar especial atención a muchos datos: aporte de los mejores nutrientes, prevención de la contaminación y control de las condiciones de fermentación, así como la temperatura y la acidez.

Nutrientes

Si se cultiva el moho *Penicillium* para obtener penicilina, debe suministrársele variedad de nutrientes que le aporten la energía y las materias primas necesarias para que sus células sinteticen sus productos. En términos cuantitativos, el principal componente de los nutrientes lo constituyen las fuentes de carbono y de nitrógeno que proporcionan la energía, así como los materiales para producir los compuestos celulares, y puesto que casi todos los constituyentes celulares contienen carbono, es elevada la demanda de nutrientes que tengan dicho elemento. Dos motivos influyen de manera decisiva en la elección de nutrientes por los biotecnólogos: el económico y el biológico.

En los experimentos de laboratorio, los científicos tienen libertad para escoger entre una amplia gama potencial de nutrientes con miras al más conveniente para el microorganismo; en una operación industrial, por el contrario, las limitaciones económicas son mucho mayores. Las perspectivas de cualquier proyecto tecnológico son sombrías si se da la circunstancia que el organismo que interviene requiere nutrientes costosos. Por fortuna no ocurre así en la mayoría de los casos y, en realidad, muchos de los procesos biotecnológicos que más éxito han alcanzado aprovechan productos de desecho procedentes de la agricultura o de la industria o también de origen doméstico.

La penicilina continúa siendo, en parte, un enigma. Se conoce detalladamente el modo en que destruye las bacterias al afectar a sus paredes celulares pero no se tiene una respuesta categórica a por qué el moho *Penicillium* produce penicilina. La explicación más obvia es que utiliza la penicilina para mantener alejados los microbios y así impedir que compitan por sus preciosas fuentes alimenticias. No obstante, el *Penicillium* casi no elabora cantidad alguna de penicilina durante la mayor parte de su ciclo biológico, y, según parece, la síntesis de dicho antibiótico queda limitada al período de aquél en que cesa el crecimiento de las células del moho. Los biotecnólogos deben resolver este problema e inducir el moho a producir la penicilina cuanto antes. La realidad es que, a pesar de la falta de conocimientos acerca de las razones biológicas para la manifiesta aversión del moho para elaborar penicilina, los biotecnólogos han resuelto con gran éxito esta dificultad.

El *Penicillium* puede utilizar muchos tipos de compuestos como fuente de energía y de carbono, en especial azúcares de diversos tipos. Consume con gran avidez un azúcar en particular, la glucosa, que ocasiona un rápido crecimiento del moho aunque con escasa producción de penicilina. Se descubrió que otro azúcar, la lactosa, que se encuentra en la leche, es menos «digestivo» para el moho, o sea, que con él no crece tan deprisa pero produce mucha mayor cantidad de penicilina. En la actualidad, la industria farmacéutica alimenta el moho con mezclas de glucosa y lactosa, y de este modo mantiene óptimo equilibrio entre crecimiento y producción de penicilina.

Las investigaciones acerca de los nutrientes más adecuados son decisivas para el desarrollo de cualquier programa biotecnológico y, a veces, como en el caso de la penicilina, un golpe de fortuna tiene amplias consecuencias. Cuando se obtiene almidón a partir del maíz queda un subproducto líquido, las melazas. Antaño este material se secaba y vendía como alimento para el ganado, lo que constituía una manera de aprovechar dicho subproducto, que en el mejor de los casos lo era sólo parcialmente. El Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos buscó durante años y sin conse-

guirlo mejor utilización de las melazas de maíz. Pero durante la segunda guerra mundial, algunos científicos de dicho ministerio que participaron en la investigación de la penicilina decidieron probar si el *Penicillium* podía crecer en aquel líquido. Los resultados fueron sorprendentes: no sólo crecía el moho y agotaba rápidamente aquel subproducto, sino que la producción de penicilina se doblaba con creces. Actualmente se sabe que las melazas de maíz contienen una excelente mezcla de compuestos de carbono y algo más importante todavía: uno de tales compuestos es un precursor de la penicilina, es decir, una sustancia que el moho puede utilizar directamente para elaborar moléculas de penicilina. Aunque no puede garantizarse que otras biotecnologías más nuevas tengan semejante fortuna, este ejemplo no deja de ilustrar las gratas sorpresas que a veces la naturaleza depara a los biotecnólogos emprendedores.

Gran parte de la multitud de compuestos del interior celular está constituida por un esqueleto de átomos de carbono, al que están unidos átomos de otra naturaleza. Los biotecnólogos, por tanto, deben procurar que también se suministren estos elementos a los organismos en cultivo, lo cual, en la práctica, apenas presenta dificultades. El hidrógeno, el elemento más abundante en la célula, existe en casi todos los compuestos de carbono y, obviamente, en el agua. Los otros elementos de capital importancia para la vida pueden aportarse fácilmente en forma de compuestos fundamentales simples y así, por ejemplo, el nitrógeno (utilizado para producir proteínas, ADN y ARN), el fósforo (ADN, ARN y membranas celulares), el azufre (numerosas proteínas) y cantidades más pequeñas de hierro, potasio, sodio, cinc y otros metales. Dado que la química celular de los microorganismos posee gran capacidad de adaptación, la mayoría de ellos sintetizan todo cuanto necesitan a partir de materiales iniciales muy simples.

Oxígeno, liberador de energía

Todas las formas más familiares de vida necesitan oxígeno para vivir. El oxígeno se combina con moléculas procedentes del suministro alimenticio en el interior de las células y libera energía, que puede utilizarse para mantener todas las funciones vitales.

Muchos de los microbios utilizados en biotecnología, entre ellos el *Penicillium*, también necesitan oxígeno (algunos no, y en realidad algunos microorganismos sucumben en presencia de oxígeno, siendo el ejemplo más notorio el *Clostridium botulinum*, responsable del botulismo, envenenamiento producido por alimentos en mal estado de conservación). De ahí la importancia del control de la cantidad de oxígeno disponible en el ambiente de los microorganismos.

Cuando se cultiva el *Penicillium* en recipientes pequeños, puede obtener directamente del aire todo el oxígeno que necesita, ya que el de la atmósfera se difunde en la masa de células en crecimiento. Pero el oxígeno no puede difundirse a largas distancias y las células próximas al fondo de los grandes tanques de fermentación utilizados en la industria podrían morir por carencia de oxígeno, a menos que se disponga de mecanismos adecuados para proporcionarles este elemento vital. Por este motivo se insufla aire a la base de los tanques de fermentación.

Interesa destacar otro hito significativo en la historia que ha conducido hasta el presente grado de eficacia en la producción de penicilina. El *Penicillium notatum*, el primer moho en la historia de la penicilina, sólo crece bien cerca de la superficie del recipiente. Así que poco se podía esperar de la construcción de tanques de varios metros de altura si el moho habita únicamente en los centímetros superiores. Por fortuna, las cepas de *Penicillium chrysogenum* descubiertas alrededor de 1940 no sólo producen más penicilina, sino que también se desenvuelven bien en las profundidades.

Mantenimiento de un ambiente uniforme

Una razón decisiva a favor de las industrias biológicas respecto a los métodos químicos para fabricar el mismo tipo de materiales, estriba en que las primeras no requieren altas temperaturas. Los catalizadores metálicos necesitan a menudo temperaturas de 100 °C o superiores para trabajar con eficacia. La mayoría de los procesos biotecnológicos tienen sus puntos óptimos entre 30 y 50 °C, temperaturas próximas a las del cuerpo humano.

Hay, sin embargo, un inconveniente: de ordinario resulta esencial mantener la temperatura de los microorganismos dentro de

un estrecho margen. Se tiene que controlar constantemente la temperatura del tanque, aplicando cuando sea necesario ligeras refrigeraciones o calefacciones. Los organismos vivientes no toleran temperaturas extremas, o sea, –10 °C por el extremo inferior y 100 °C por el superior, debido a la misma naturaleza de sus constituyentes químicos. Si las proteínas, el ADN o cualesquiera otras muchas moléculas esenciales para la vida se calientan en demasía, se altera su estructura y ya no funcionan correctamente. Por otro lado, cuando cae la temperatura, disminuye rápidamente el efecto catalizador de los enzimas. La casi increíble eficacia de los enzimas presenta la contrapartida de que sólo actúan satisfactoriamente a determinada temperatura o a valores muy próximos a ella. Esta temperatura varía de unas especies a otras, y así, por ejemplo, la fauna ictiológica polar está adaptada a vivir a 0 °C o a temperaturas inferiores y sus enzimas son compatibles con este frío, mientras que las bacterias de los manantiales geotermales poseen enzimas que mantienen su actividad a temperatura de 85 °C*. Se piensa que la facultad para mantener constante la temperatura corporal ha sido una de las causas más importantes que ha permitido a los mamíferos sustituir a los reptiles dentro del reino animal en el dominio de la tierra firme. La temperatura corporal de la mayoría de los mamíferos varía aproximadamente un grado con independencia de la temperatura externa. Esto significa que sus enzimas pueden trabajar siempre con eficacia y les deja mantenerse activos sin caer en el torpor de los reptiles durante la noche ni en la estación fría.

El *Penicillium* genera calor a medida que consume nutrientes. Si se cultiva ese moho en un recipiente pequeño, este calor suplementario se disipa rápidamente por las paredes del vaso. Por el contrario, se tienen que refrigerar los grandes tanques industriales para impedir que se recalienten, lo que dañaría el moho. En la figura 3-1 se muestran las envolturas refrigerantes que rodean el tanque de fermentación así como las válvulas y conducciones para añadir ácidos o bases al medio de fermentación.

* Recientemente se ha descubierto que algunos tipos de bacterias viven en las chimeneas volcánicas del fondo de los océanos. La presión en dicho ambiente es muy elevada y la temperatura alcanza 300 °C. Existen también algunos exóticos seres vermiformes que viven cerca de estas chimeneas y que probablemente se alimentan de dichas bacterias. No se conoce de qué manera las bacterias pueden vivir en tan hostil ambiente.

Cualquiera que haya elaborado su propio vino sabe la importancia de mantener un grado correcto de acidez (pH) si se desea obtener una bebida de paladar agradable. De la misma manera

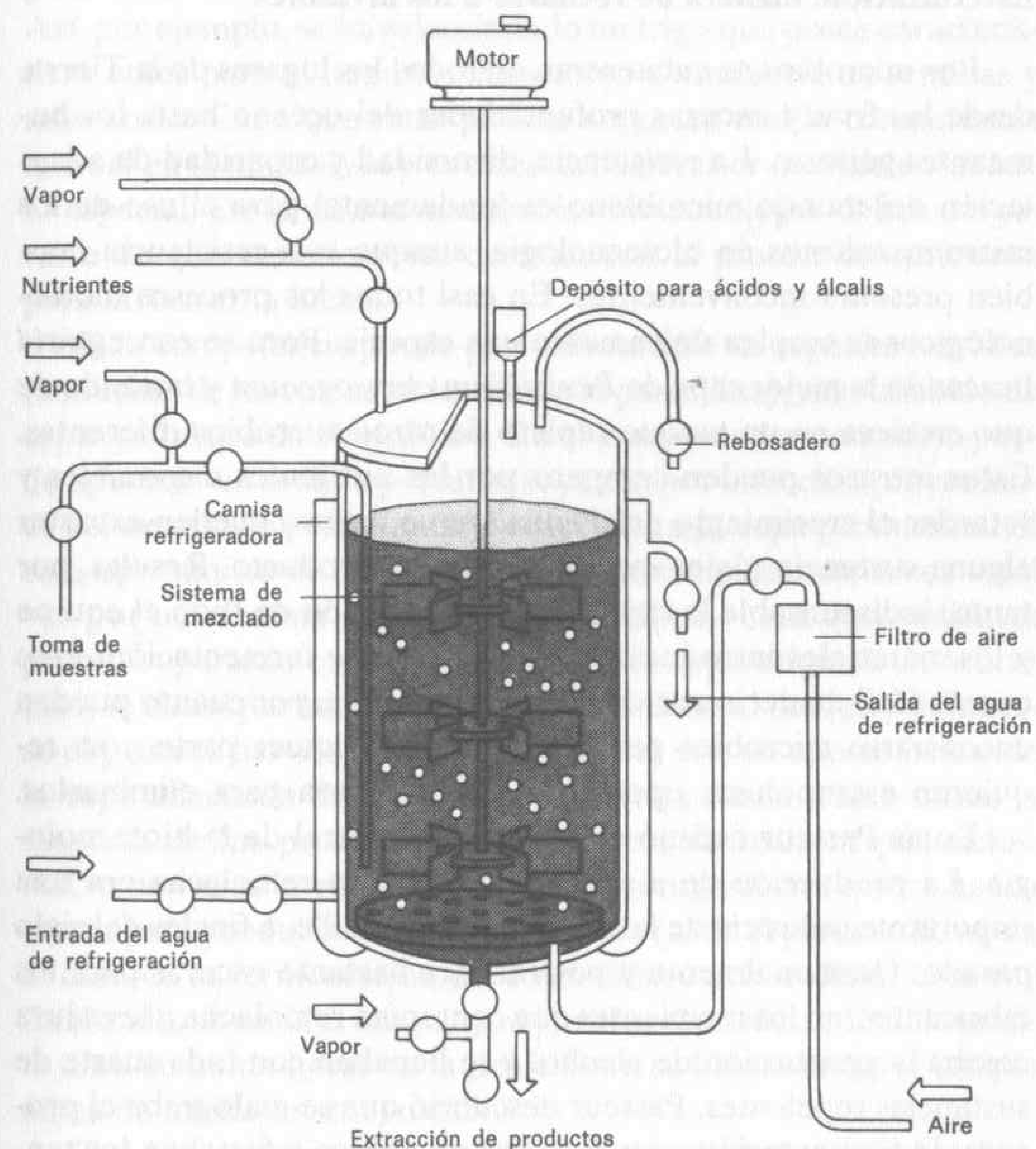


Fig. 3-1. Típico tanque de fermentación. Los microorganismos se desarrollan a partir de los nutrientes colocados en el tanque al inicio de la fermentación. Se refrigera el tanque con un circuito de agua y se inyecta aire en el fondo del líquido; si es necesario se añaden ácidos o álcalis. Con un sistema de palas se remueve la mezcla y existe un sistema de entrada de vapor para poder esterilizar el tanque después de cada fermentación.

que los organismos tienen preferencias de temperatura también existen óptimos de acidez o alcalinidad. La producción de penicilina es, en realidad, muy sensible a la acidez del ambiente, y si ésta es demasiado elevada o en exceso baja, disminuye considerablemente la producción de antibiótico.

Esterilización: manera de rechazar a los invasores

Los microbios se encuentran en todos los lugares de la Tierra, desde las frías y oscuras profundidades del océano hasta los humeantes géiseres. La resistencia, diversidad y capacidad de adaptación del mundo microbiano es fundamental para el uso de los microorganismos en biotecnología, aunque esta resistencia también presenta inconvenientes. En casi todos los procesos biotecnológicos se emplea únicamente una especie. Poco se conseguiría buscando la mejor cepa de *Penicillium chrysogenum* y tratando de que creciera en un tanque repleto de otros microbios diferentes. Estos intrusos pueden competir por los nutrientes disponibles y retardar el crecimiento del *Penicillium* e incluso pueden excretar alguna sustancia tóxica que contamine el producto. Resulta, por tanto, indispensable la cuidadosa esterilización de todo el equipo y los materiales introducidos en el tanque de fermentación. Esto es más fácil de decir que de poner en práctica, por cuanto pueden encontrarse microbios perjudiciales en cualquier parte y se requieren escrupulosas operaciones de limpieza para eliminarlos.

Louis Pasteur definió este principio central de la biotecnología. La producción de alcohol a partir de la remolacha era una importante industria de la villa francesa de Lille, a finales del siglo pasado. Ocasionalmente y por razones bastante oscuras para los fabricantes, en los recipientes que contenían remolacha y levadura cesaba la producción de alcohol y se llenaban con toda suerte de sustancias repelentes. Pasteur descubrió que se malograba el proceso de fermentación cuando otros microbios infectaban los tanques. Aunque desde entonces los peligros de la contaminación microbiana son harto conocidos, las infecciones todavía causan problemas de vez en cuando.

Los organismos utilizados en casi todas las biotecnologías presentan especialmente el riesgo de ser superados por otros organismos competidores. Y ello porque el hombre ha seleccionado las cepas empleadas de manera artificial basándose en que poseen determinadas características, por ejemplo, y en este caso, mayor producción de penicilina. Es probable que cualquier organismo que elabore en exceso (desde su propio punto de vista) algún tipo de sustancia se halle en inferioridad de condiciones frente a otros organismos. Este fenómeno se presenta también en la agricultura. Así, por ejemplo, se ha seleccionado un trigo que posee características útiles para el hombre, tales como abundancia de semillas y tallo corto. Cabe que estas plantas soporten mal la competencia normal en la naturaleza y es tarea del agricultor otorgarles un trato especial. De la misma manera, los biotecnólogos deben asegurarse de que sus microbios cuentan con la protección suficiente para arrostrar la lucha.

Esta competencia puede provenir no sólo de especies extrañas (a muchas de las cuales no les afecta la penicilina), sino también de cepas próximas de *Penicillium*. En el tanque de fermentación puede aparecer un moho oportunista, ya sea por infección proveniente del exterior o por mutación acaecida en la cepa productora. Si este oportunista es más eficaz en el consumo de nutrientes —tal vez por no efectuar la síntesis de penicilina—, sus descendientes pronto superarán en número a los de la cepa original. Si ocurre esto, se tiene que limpiar y volver a esterilizar el tanque y detenerse el proceso hasta que se vuelva a iniciar con un aporte fresco de la cepa adecuada de *Penicillium*. Por esta razón, entre otras, la mayoría de los procesos biotecnológicos se realizan por ciclos. Así, cada vez se introducen nuevos microorganismos que se hacen crecer para producir el material deseado (todo el proceso lleva, en el caso de la fermentación del *Penicillium*, nueve días). Una vez finalizado, se vacía el tanque y se purifica el producto final (durante unas cuarenta horas en la penicilina); se limpia luego el tanque antes de iniciar un nuevo ciclo.

Tender hacia un proceso continuo comportaría, indudablemente, muchas ventajas, al poder trabajar durante semanas o meses en que se aportarían gradualmente los nutrientes a la vez que se retirarían los productos elaborados. En la actualidad se investiga intensamente para desarrollar sistemas continuos en diversos campos de la biotecnología.

Purificación del producto

Completado el proceso de fermentación, el tanque está lleno de un espeso caldo de células microbianas, algunos nutrientes no consumidos y penicilina disuelta. La extracción y purificación de los productos de la fermentación varía ampliamente de acuerdo con cada proceso. En el caso de la penicilina —molécula bastante pequeña, que las células excretan en su medio externo—, los problemas planteados no son demasiado difíciles de resolver. En primer lugar, se separan las células por filtrado del líquido que contiene la penicilina, y se eliminan. Cuando se añaden determinados compuestos de potasio al líquido, la penicilina forma cristales que van a parar al fondo del recipiente, de donde se recogen. Esta forma fundamental de la penicilina, denominada penicilina G, se puede modificar químicamente y convertirla en una amplia gama de penicilinas semisintéticas, tales como la ampicilina y la meticilina. La modificación química de los antibióticos producidos por microorganismos es una característica común de la industria farmacéutica; los biotecnólogos y los químicos colaboran en la producción de muchos antibióticos distintos, cada uno de los cuales tiene una particular aplicación.

En otros procesos biotecnológicos puede ser necesario romper las células microbianas para liberar el producto buscado. La mayoría de los enzimas, por ejemplo, permanecen en el interior de las células, que no los excretan de modo natural. Si es preciso romper las células, resulta mucho más complicada la purificación de la sustancia requerida, por la presencia de grandes cantidades de restos celulares, lo cual puede aumentar considerablemente los costes de toda la operación. A nivel de investigación básica ya es posible obtener dentro del microbio proteínas híbridas que constan de la proteína que interesa unida a una corta secuencia de aminoácidos que facilitan que la bacteria secrete el conjunto al medio extracelular, lo que facilita su purificación posterior.

El campo de los sistemas de purificación de proteínas está en plena efervescencia, y continuamente llegan a los despachos de los científicos nuevos métodos de la mano de los agentes de venta de las industrias biotecnológicas, las cuales a su vez las han obtenido de los científicos.

¿BIOTECNOLOGÍA EN EL ESPACIO?

Desde que los biotecnólogos se dieron cuenta de las posibilidades de los actuales sistemas tecnológicos, se plantearon la cuestión de las perfeccionadísimas técnicas que se pueden desarrollar en otros lugares. Recientemente, los biotecnólogos han empezado a considerar las circunstancias acerca de la puesta a punto de la tecnología espacial y se han establecido relaciones entre la biotecnología y el programa de la lanzadera espacial de la NASA. La gigantesca McDonnell Douglas Corporation, por su parte, está experimentando un nuevo sistema, denominado electroforesis en el espacio. La electroforesis, en sí, es una técnica muy conocida, empleada en muchos laboratorios, que consiste en utilizar un campo eléctrico para separar materiales específicos (a menudo proteínas) de mezclas complejas. Aunque la electroforesis funciona muy eficazmente en la Tierra, parece que puede trabajar aún mejor en el espacio. Los efectos gravitatorios existentes en la superficie terrestre limitan la capacidad del sistema para separar los materiales con tanta rapidez y limpieza como teóricamente sería posible. La electroforesis en el espacio realizada en la lanzadera espacial en órbita proporciona mejores resultados, de acuerdo con las pruebas efectuadas por la McDonnell Douglas, y puesto que la obtención de proteínas purificadas a partir de mezclas es tan importante en muchos campos de la biotecnología, los experimentos del transbordador espacial han suscitado considerable interés.

Ahora bien, es carísimo lanzar materias primas hacia un sistema de electroforesis en el espacio y hacer retornar el producto final. Pocos biotecnólogos piensan que la electroforesis en el espacio pueda ser una operación comercial en el plazo de bastantes años, aunque durante este tiempo proporcione muchos datos fundamentales acerca de los sistemas de electroforesis, que pueden ayudar a mejorar sus equivalentes terrestres.

IV. BIOTECNOLOGÍA Y ENFERMEDAD: PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y CURACIÓN

La introducción de la penicilina y el conjunto de antibióticos posteriores ha contribuido a combatir el azote de las enfermedades infecciosas y ha salvado millones de vidas. En la actualidad, los biotecnólogos están preparando el camino para el ataque definitivo contra otras muchas de las más devastadoras enfermedades a escala mundial, tales como el cáncer, la diabetes, la hepatitis, la malaria y la enfermedad del sueño. Menos comunes aunque igualmente dañinas, las enfermedades hereditarias, como la hemofilia, también se podrán vencer con ayuda de la biotecnología.

Impresionan las aplicaciones médicas de la industria biológica y fascina su progreso. Hace sólo pocos años, muchas técnicas corrientes existían únicamente en el terreno de la ciencia ficción y otras muchas serán realidad en el plazo de breve tiempo. Muchos y diversos aspectos de la biotecnología pueden aprovecharse para la lucha contra las enfermedades. Así, por ejemplo tanto los microorganismos naturales como los obtenidos por ingeniería genética se pueden emplear para producir medicamentos, vacunas, hormonas y enzimas; materiales nuevos, como los anticuerpos monoclonales, pueden ayudar al diagnóstico y la terapia, mientras que la fusión celular proporciona nuevos y potentes antibióticos.

En este capítulo se examina la contribución que los biotecnólogos pueden aportar a la prevención, diagnóstico y curación de tres grupos de enfermedades: las producidas por la invasión del organismo por virus, bacterias u otros microorganismos, las debidas a algún desequilibrio del funcionamiento químico normal del cuerpo y, por último, aquellas cuyas causas son menos conocidas, entre ellas las enfermedades cardiacas y el cáncer.

RECHAZAR A LOS INVASORES

A finales del siglo pasado, dos científicos insignes, Louis Pasteur, en Francia, y Robert Koch, en Alemania, trabajaron firmemente en el establecimiento de la teoría que probablemente ha tenido más repercusión en la medicina moderna que cualquier otra. Koch y Pasteur demostraron conjuntamente que microorganismos específicos e identificables son los causantes de determinadas enfermedades humanas y animales —tales como la tuberculosis, el ántrax y el cólera.

En la actualidad, la teoría microbiana de la enfermedad puede parecer obvia, pero en aquel tiempo esta noción era poco menos que revolucionaria. Aunque Pasteur y Koch no fueron los primeros científicos en proponer algo parecido, su trabajo aportaba pruebas definitivas y contribuía en gran manera a disipar el aire de misterio que había rodeado anteriormente las ideas sobre la naturaleza de la enfermedad.

Antes de que arraigara la teoría microbiana de la enfermedad, sólo la imaginación de quienes se ocupaban de estudiar y analizar las enfermedades establecía los límites de sus posibles «causas»: los miasmas del aire, influencias sobrenaturales y los defectos del carácter de los enfermos, que se utilizaban para «explicar» la aparición de las enfermedades.

Aceptada la teoría microbiana de la enfermedad por el pensamiento médico, se inició una era de diagnóstico y tratamiento más científicos. Hoy se sabe que muchas enfermedades comunes están producidas por bacterias, virus y hongos y que tales dolencias se propagan en la medida en que pasan directa o indirectamente de persona a persona. Se dedica actualmente mucha atención a seguir y reconocer los microbios infecciosos y una vez descubierto el responsable se pueden empezar a proyectar métodos específicos para combatirlo.

El estudio de los microbios, la microbiología, revela que no todos son perjudiciales, lo cual no deja de ser una suerte por cuanto toda persona alberga literalmente millones de microbios y no podría vivir demasiado tiempo si la mayoría de ellos no fueran inocuos. Con el surgimiento de la biotecnología, las relaciones del hombre con los microbios entra en una nueva fase: algunos microbios presentan usos médicos muy positivos, en especial para la producción de antibióticos.

Antibióticos: el banco de pruebas de la biotecnología

En la actualidad se dispone de unos cien antibióticos distintos para uso terapéutico. Por grande que parezca esta cifra, representa sólo una pequeña parte de los casi cinco mil compuestos aislados a partir de microorganismos, que tienen la característica de matar o eliminar otros microbios. Los numerosísimos antibióticos que no se utilizan en medicina se rechazan por diversas razones: algunos producen exceso de efectos secundarios perjudiciales, otros resultan demasiado caros de fabricar en gran escala y otros, simplemente, no cumplen una función específica tan bien como otros antibióticos fácilmente disponibles.

Las cuatro clases principales de antibióticos —penicilinas, tetraciclinas, cefalosporinas y eritromicina— representan un volumen anual de ventas de varios miles de millones de dólares y en todos los casos constituyen soberbios ejemplos del arte de la biotecnología. Aunque difieren los detalles acerca del modo en que cada grupo beneficia al hombre, son aplicables los mismos principios generales descritos en el capítulo III a propósito de la penicilina. Las razones para el desarrollo de esta gama de antibióticos y para la búsqueda de otros nuevos se encuentran en la historia de las cefalosporinas.

En 1945, Giuseppe Brotzu, profesor sardo de bacteriología, encontró un microorganismo en el mar, cerca de la boca de un albañal. El hongo, del género *Cephalosporium,* produce una sustancia que mata una amplia gama de bacterias. Dado que Brotzu no tenía facilidades para analizar esta sustancia, mandó el organismo a Oxford, donde, en el laboratorio de Howard Florey —en que se habían realizado las primeras investigaciones sobre la penicilina—, Guy Newton y Edward Abraham descubrieron que el hongo producía un nuevo tipo de penicilina, que denominaron penicilina N. Posteriormente, en 1953, efectuaron otro hallazgo de mucha mayor importancia: dicho organismo también elaboraba otro antibiótico, que llamaron cefalosporina C.

La ventaja inmediata que presentaba la cefalosporina C estri-

baba en que podía matar bacterias resistentes a la penicilina. El fenómeno de la resistencia a los antibióticos ha llegado a ser uno de los mayores estímulos para la investigación de nuevos antibióticos. Al principio, cuando se introdujo, la penicilina parecía ser un medicamento fantástico y, en realidad, aplicándola se detenían muchas de las infecciones bacterianas perjudiciales más comunes. Pero en el plazo de unos pocos años, los médicos observaron con pesar que algunas infecciones que antes se atajaban rápidamente con un tratamiento de penicilina, ahora no respondían a él: las bacterias se habían vuelto resistentes a la penicilina.

La resistencia a determinado antibiótico puede aparecer en una población de bacterias de muchas maneras, incluida la transferencia de plásmidos para la resistencia al antibiótico desde otra especie o cepa. Por desgracia, desde el punto de vista del hombre, el simple hecho del empleo generalizado de un antibiótico estimula la aparición de bacterias resistentes. Así, por ejemplo, las primeras bacterias resistentes a la penicilina que surgieron «empezaron» a producir un enzima, la penicilinasa, que ataca el antibiótico antes de que pueda actuar. Cabe que desde siempre existieran algunas células que produjesen pequeñas cantidades de este enzima, aunque rebasadas ampliamente en número por las sensibles a la penicilina, pero una vez exterminadas éstas por la penicilina, las cepas resistentes pasaban a ocupar su lugar.

Se desarrolló la cefalosporina C para remediar enfermedades, como la neumonía, causadas por *Staphylococcus* resistentes a la penicilina, pero antes de que se pudiera usar la cefalosporina en gran escala, dichas bacterias fueron ampliamente vencidas por una penicilina semisintética, la meticilina, producida por modificación química de la penicilina fundamental obtenida directamente del moho *Penicillium.* La cefalosporina encontró su lugar a partir de 1960, cuando empezó a utilizarse para contrarrestar otros tipos de infecciones bacterianas, y en la actualidad constituye parte principal del arsenal de compuestos antimicrobianos.

Tanto la penicilina como la cefalosporina pertenecen al grupo de los antibióticos denominado de las β-lactamas, debido a la característica estructura circular de su molécula. Su modo de acción consiste en que impiden a determinadas bacterias la correcta construcción de sus paredes.

La estreptomicina, por otro lado, pertenece al grupo de los antibióticos llamados aminoglucósidos, que actúan impidiendo a ciertas bacterias la elaboración de sus proteínas. Una vez en el interior de la bacteria, la estreptomicina destruye sus ribosomas, pequeñas estructuras globulares hacia las que se dirige la información genética contenida en el ARNm para traducirla a proteínas.

Este antibiótico fue descubierto por Selman Waksman, una de las principales figuras de la historia de la microbiología, y sus colaboradores de la Rutgers University de Nueva Jersey. Estos investigadores habían dedicado varios años de trabajo al estudio de los microorganismos del suelo y en 1944 anunciaron que habían encontrado un nuevo antibiótico, al que dieron el nombre de estreptomicina, porque procedía del microorganismo filiforme *Streptomyces griseus.* La estreptomicina resultaba muy valiosa porque ataca microbios insensibles a la penicilina y a la cefalosporina. En particular, revolucionó el tratamiento de la tuberculosis: los pacientes que hasta entonces estaban condenados a años de lenta medicación en los sanatorios, con el nuevo medicamento se podían curar, con un tratamiento de sólo meses de duración. Constituye un hecho singular, que nunca se ha explicado satisfactoriamente, que la mayor parte de los antibióticos, incluida la estreptomicina, los produce una parte de los antibióticos, incluida la estreptomicina, los produce una limitada serie de organismos que reciben el nombre genérico de actinomicetos. Por su aspecto, los actinomicetos son semejantes a los mohos que elaboran la penicilina y la cefalosporina. La red ramificada de filamentos de los actinomicetos está compuesta por células bacterianas procariotas, mientras que los mohos están constituidos por células más complejas, eucariotas.

El alarmante incremento de la resistencia de diversas clases de antibióticos exige que continúe la búsqueda de otros nuevos. No son de esperar en un plazo breve grandes avances realizados por el tipo de ingeniería genética descrita en páginas anteriores, o sea, la introducción de uno o dos genes que instruyen a las células para elaborar algún tipo de proteínas que antes no producían. Ninguno de los antibióticos más comunes son proteínas y, por tanto, no constituyen productos directos de los genes. La mayoría de los antibióticos se forman en el interior de la célula mediante una cadena de

reacciones químicas discontinuas, catalizada cada una por un enzima específico y, obviamente, cada enzima se produce de acuerdo con un plan contenido en su gen. Supone una tarea inmensa desentrañar cómo se forma exactamente un antibiótico, qué enzimas participan en el proceso y qué genes se hallan relacionados con él.

Pero cabe recurrir a la ingeniería genética para modificar antibióticos. Existen numerosos ejemplos de antibióticos próximos utilizados en medicina, que, en realidad, son muy semejantes desde el punto de vista químico. Un ejemplo clásico lo constituye el grupo de la penicilina: todas tienen la misma estructura fundamental, pero la presencia de un conjunto de modificaciones químicas relativamente de segundo orden produce una gama de medicamentos de usos diferenciados. En la actualidad, sólo la estructura principal de la penicilina se obtiene directamente de los mohos, ya que después se utilizan técnicas totalmente químicas para modificar las moléculas a fin de obtener los distintos tipos de penicilina. Esto puede efectuarse con cierta facilidad en el caso de las penicilinas, pero modificar según qué tipos de antibióticos quizá resulte más difícil. Posiblemente puedan hacerlo los microbios.

Se tienen que inducir los microbios a usar determinados enzimas que ya poseen para modificar los antibióticos estándares que producen normalmente. Por ejemplo, las células utilizan los enzimas denominados metiltransferasas para intercambiar una unidad metilo (formada por un átomo de carbono y tres de hidrógeno) entre dos moléculas preexistentes. Dichas reacciones de metilación son vitales para numerosos procesos químicos que se desarrollan en el interior de la célula. Si las células que producen un antibiótico se pueden inducir a emplear sus metiltransferasas para añadir una unidad metilo a sus moléculas de antibiótico, se originará un nuevo antibiótico que tendrá propiedades distintas y, quizá, más útiles. Aunque tales antibióticos modificados son quizá más probables de conseguir mediante la ingeniería genética, en realidad, la técnica de fusión celular ofrece otra posibilidad.

Fusión celular: microbios nuevos a partir de viejos

Muy pocos procesos biotecnológicos utilizan cepas «naturales» de microorganismos, es decir, las que se encuentran en el ambiente. Cabe que tales cepas «salvajes» estén admirablemente adaptadas a vivir en sus hábitats normales, pero probablemente producirán poca cantidad de las sustancias requeridas y pueden no encontrarse a gusto en el ambiente de un fermentador. Recuérdese aquí que las cepas naturales de *Penicillium* producen únicamente una milésima parte de la cantidad de penicilina de la que elaboran las cepas utilizadas actualmente en la industria farmacéutica.

Cuando los biotecnólogos tratan de producir una nueva cepa de microorganismos, puede que confíen más en una evolución producida por métodos artificiales que en la selección natural. Así, por ejemplo, en el desarrollo de las cepas muy productivas de *Penicillium* se indujeron mutaciones sometiendo los microorganismos a tratamientos, con sustancias químicas y radiaciones (véase la página 79), proceso completamente aleatorio, sin que haya manera alguna de saber qué alteraciones producirá en el material genético de los microorganismos. La ingeniería genética es mucho más eficaz, ya que trata de introducir en el microorganismo un gen específico. La técnica de fusión celular ocupa una posición intermedia en esta escala desde el azar hasta la modificación genética específica: sus resultados son más predecibles que las mutaciones aleatorias pero menos que los de la ingeniería genética.

Quizá no resulte familiar el término fusión celular, pero existe por lo menos una muy buena razón para que ocupe una posición central en la vida del hombre: cada persona fue originada por un proceso de fusión celular. La reproducción sexual ocurre cuando dos células portadoras de información genética distinta se juntan: se fusionan. La combinación resultante de genes, parte procedentes del óvulo y parte procedentes del espermatozoide, origina un nuevo individuo distinto de cada uno de sus progenitores y que, en realidad, es genéticamente único. La constante mezcla de genes, de generación en generación, ocasiona buena parte de la diversidad entre los individuos de una especie en que actúa la selección natural.

La mayoría de los microbios, por el contrario, se reproducen predominantemente por simple división, en que la célula se parte para generar dos descendientes idénticos. De modo que, en ausencia de cualquier mutación aleatoria, no se produce ninguna combinación nueva de genes y la generación siguiente presenta

exactamente las mismas características que las anteriores. Esto constituye, ciertamente, una gran ventaja para los biotecnólogos una vez obtenida la cepa deseada, pero se trueca en un inconveniente en la búsqueda de nuevas o mejores cepas. La técnica de fusión celular permite la generación en microorganismos de combinaciones génicas innovadoras por fusión de dos células.

Los principios son bastante claros. Primero se eliminan las gruesas membranas externas de la bacteria, por lo general con la ayuda de enzimas, y el contenido celular queda rodeado únicamente por la membrana mucho más fina. Entonces se obliga a estas frágiles formas de células, denominadas protoplastos, a combinarse mediante la adición de determinados virus o sustancias químicas (lámina 7).

La fusión celular produce células híbridas o recombinantes, que contienen material genético procedente de dos o más células. Las células así fusionadas pueden pertenecer a cepas distintas de una misma especie microbiana o incluso a especies por completo diferentes. La gran ventaja de este proceso estriba en que se pueden obtener mezclas nuevas de material genético, combinaciones que no se producen en absoluto, o sólo raramente, en la naturaleza. Además de su utilidad para la producción de antibióticos modificados, antes descrita, con la fusión celular se pueden obtener también antibióticos nuevos por activación de genes «silenciosos».

Hoy se sabe que el grupo bacteriano de los actinomicetos produce centenares y centenares de antibióticos distintos y año tras año se descubren otros nuevos. Es bastante probable que estos organismos posean la propiedad inherente de elaborar aún mayor gama de sustancias antibióticas, que algunas podrían tener utilidad médica. De acuerdo con esta teoría, los genes que instruyen a la célula para producir estos antibióticos, todavía no descubiertos, son genes «silenciosos» o no expresados, es decir, no se elabora ARNm a partir de sus instrucciones, con lo cual no se sintetizan las proteínas correspondientes. Como se indicó en la página 38, la mayoría de los genes de una célula están, en determinado momento, inactivados. Si un organismo no precisa la proteína codificada en un gen, no suele malgastar energía en producirla. El problema estriba en empujar las células de los actinomicetos a poner en funcionamiento los genes silenciosos, en demostrarles que sus productos son necesarios. Es razonable pensar que dichos genes deben ser activos en determinadas condiciones —temperatura, aporte de nutrientes u otros factores externos—, por cuanto de otro modo si el organismo nunca los hubiera utilizado probablemente los hubiese descartado durante su evolución. Cabe, en este aspecto, que exija mucho trabajo el intento de cultivar dichas células en un enorme abanico de condiciones diversas, con la finalidad de encontrar algo que desencadene la activación de tales genes. Pero la fusión celular ofrece una vía más corta.

No se utiliza todo el ADN celular para albergar los códigos que contienen las instrucciones a la célula sobre cómo producir determinadas proteínas (véase la página 54). Algunas secuencias del ADN realizan una función de control, que permite a la célula activar o desactivar los genes que codifican proteínas de acuerdo con las fluctuaciones de sus necesidades. La mayor parte de los descubrimientos más interesantes y temibles de la biología fundamental durante los últimos años están relacionados con el control de la expresión génica. Ahora se va descubriendo la enorme y sutil complejidad de los sistemas de control génico, sin duda proporcionará muchas más sorpresas antes de conocerla por completo. Lo esencial —por lo que respecta a su potencial aplicación en la fusión celular— es que las secuencias de control del ADN no «saben» qué genes controlan. Los sistemas de control de las células normales han evolucionado en el sentido de activar o desactivar sus respectivos genes de acuerdo con las necesidades celulares de las proteínas que codifican cada gen. Pero si se desplaza una secuencia de control desde su posición natural a otro lugar en que pasa a controlar un gen completamente distinto, activará o desactivará a su nuevo compañero según la percepción de las secuencias de control de las necesidades celulares para la proteína fabricada por el gen al que normalmente está asociado.

La fusión celular es una manera de juntar parejas insólitas de genes que codifican para proteínas y regiones génicas de control. Su finalidad estriba en juntar un gen silencioso de antibiótico a una región de control que pueda activarse o desactivarse, en condiciones controlables, en el interior de los tanques de fermentación. En estas condiciones, bajo la influencia de su nueva región de control, el gen antes silencioso empezará a expresarse: es decir,

se copiará ARNm a partir del gen y se sintetizarán los enzimas que el microorganismo debe utilizar para producir los nuevos y útiles antibióticos.

Cuando las células se fusionan, en particular si pertenecen a cepas próximas de microorganismos, algunos fragmentos de ADN de cada célula originaria intercambian sus posiciones. Así, una región de control de la célula A puede desplazar otra de la célula B, de manera que podrá desencadenar la expresión de un gen antes silencioso de la célula B. De momento no hay sistema alguna de dirigir este intercambio genético entre ambas células fusionadas. Pero como todo experimento de microbiología, esto concierne también a enormes cantidades de células, de manera que en la medida en que tales intercambios sean productivos, la fusión celular constituye un posible método para la producción de nuevos antibióticos.

Anticuerpos monoclonales: ¿por fin las «balas mágicas»?

El científico alemán Paul Ehrlich aseguró su lugar en la historia al establecer los fundamentos de la inmunología, o sea, el estudio de las defensas corporales frente a la infección, y por sus investigadores acerca de los efectos de las sustancias químicas en los microbios, que culminaron a finales del siglo pasado con el descubrimiento del primer tratamiento eficaz de la sífilis. También se le recuerda en buena medida por su término «balas mágicas», que encierra el ideal de toda investigación sobre medicamentos. Ehrlich aspiraba a encontrar medicamentos que pudieran exterminar los microbios sin producir efectos nocivos a los pacientes. Hasta el presente, su sueño no se ha realizado nunca por completo, ya que incluso los mejores fármacos producen ocasionalmente efectos secundarios perjudiciales. Quizá nunca se descubrirán tales medicamentos perfectos, pero, en 1975, los científicos avanzaron algo más hacia la noción implícita en el término bala mágica: la facultad de dirigir el medicamento hacia el lugar corporal exacto donde será más útil. En aquel año, Georges Köhler y Cesar Milstein, trabajando en Cambridge (Inglaterra), descubrieron la manera de obtener anticuerpos monoclonales y sus desvelos fueron recompensados con el Nobel de medicina en 1984.

La biotecnología que utiliza los anticuerpos monoclonales es probablemente la de mayor y más rápida repercusión en medicina. Es necesario aceptar esta temeraria afirmación para comprender cómo son y cómo se obtienen los anticuerpos monoclonales.

Todos los animales presentan batalla constantemente a los virus, bacterias, hongos y productos químicos contenidos en su ambiente. Si logran penetrar en su cuerpo y en sus distintas células, los resultados pueden ser devastadores. Las primeras líneas de defensa están constituidas por la piel y las membranas que rodean las células, que en muchos casos pueden rechazar la amenaza. Pero cuando destruyen o salvan tales defensas, se emplean otras armas más sutiles y poderosas para afrontar los invasores. Entre las armas del sistema inmunológico ocupa lugar preeminente el grupo de proteínas denominadas anticuerpos.

Células especializadas del bazo, la sangre y los ganglios linfáticos producen los anticuerpos. Las denominadas células B elaboran los anticuerpos que circulan por el organismo en busca de microbios u otros materiales extraños a los que bloquear, e, interceptado el invasor, se pone en funcionamiento el resto del sistema inmunitario hasta culminar con la muerte del forastero indeseable. Una pregunta capital de la inmunología —y que precisamente tiene mucho que ver con la biotecnología— es de qué modo los anticuerpos reconocen las sustancias extrañas y se acoplan a ellas. La propia estructura molecular de los anticuerpos proporciona la respuesta y muestra la clave de sus enormes posibilidades para la biotecnología.

La forma de cada molécula de anticuerpo viene dictada por la secuencia de aminoácidos empleados en su constitución. Todos los anticuerpos poseen la misma forma esencial, la de una letra Y, pero cuando se examinan más detalladamente resulta que esta aparente uniformidad esconde una increíble diversidad. Cada anticuerpo tiene dos cavidades idénticas, una en cada brazo de la molécula, cuya forma cambia sutilmente de unos anticuerpos a otros, y esta variación da a los anticuerpos su característica más importante: la especificidad. Las cavidades del anticuerpo engranan con las estructuras moleculares a las cuales se adhieren (fig. 4-1). En el cuerpo humano existen, literalmente, millones de tipos distintos de anticuerpos que presentan, en cada caso, cavidades de forma característica.

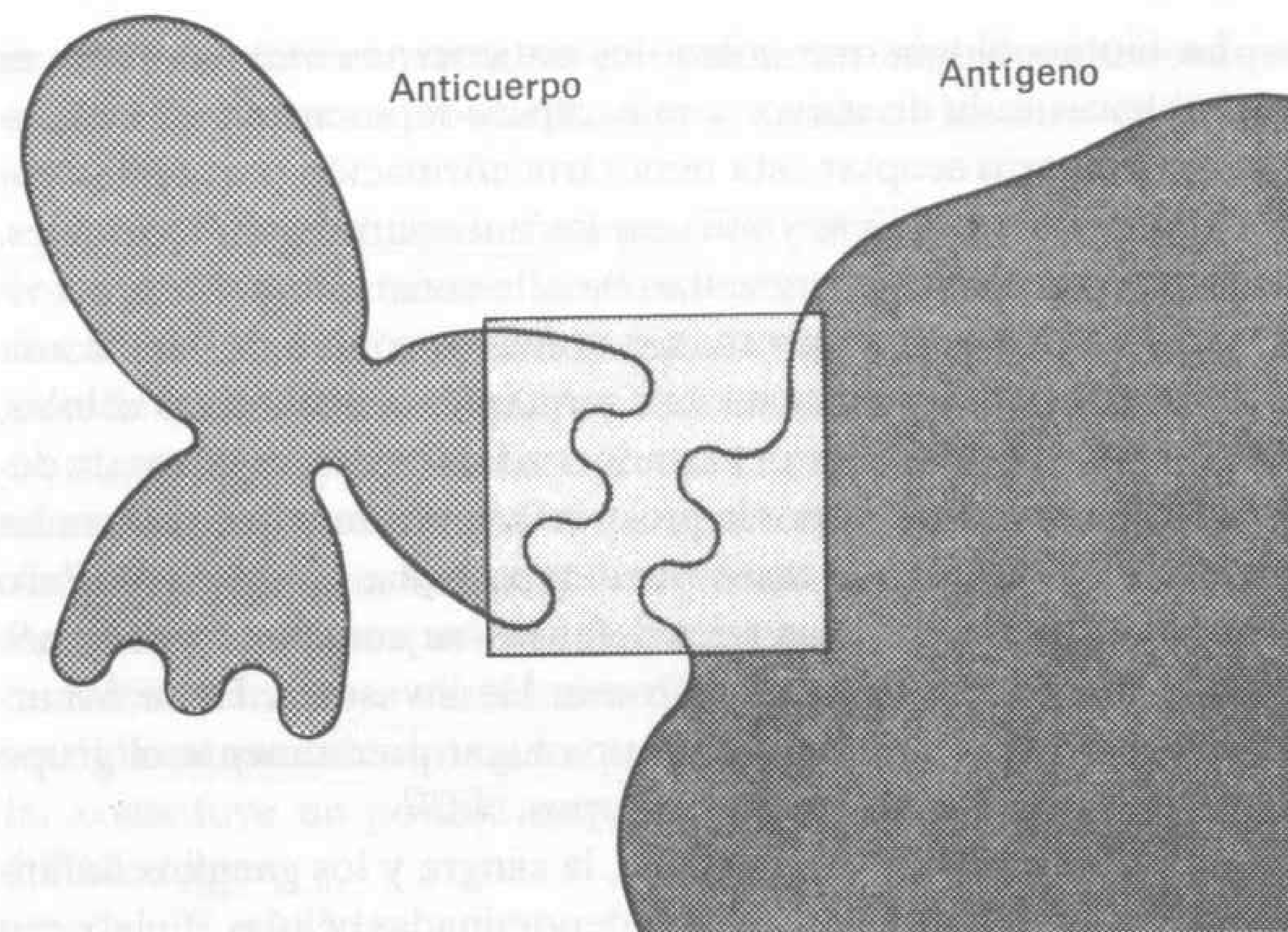


Fig. 4-1. Los anticuerpos (también denominados inmunoglobulinas) son proteínas en forma de Y. En el extremo de cada brazo existen dos especies de receptáculos, cuya forma varía de una clase de moléculas de anticuerpo a otras. Cuando un anticuerpo encuentra un antígeno cuya configuración encaja en sus receptáculos, se une a él.

La superficie de toda sustancia —ya sea un virus, una bacteria o un plástico liso— presenta moléculas que sobresalen, y cuando un anticuerpo encuentra un saliente que encaja con sus cavidades se produce el acoplamiento entre ambos. La estructura a que se adhiere un anticuerpo se denomina antígeno. La relación entre antígeno y anticuerpo es muy precisa: un anticuerpo sólo se adhiere a un antígeno que tenga exactamente la forma idónea. El término anticuerpos monoclonales se aplica al grupo de anticuerpos idénticos que poseen el mismo tipo de cavidad, de modo que reconocen, exactamente, el mismo antígeno.

Esta interacción tan específica se puede utilizar en varios sentidos. Por ejemplo, muchas enfermedades se caracterizan por la presencia en el cuerpo de sustancias extrañas (virus, bacterias, etc.) o por excesivas cantidades de ciertas sustancias normales, y los anticuerpos monoclonales se emplean para detectar su presencia, mezclando los anticuerpos apropiados con muestras de sangre

u otros líquidos corporales. Proporcionando una cantidad precisa de sustancias específicas al cuerpo de un paciente también resulta posible diagnosticar otras muchas anomalías, tales como, por ejemplo, determinadas formas de esterilidad, que se caracterizan por la ausencia de alguna hormona.

La principal dificultad técnica reside en la obtención de los anticuerpos necesarios. No existe manera práctica de aislar el anticuerpo deseado de la legión de otras moléculas parecidas, de modo que debe adoptarse otra vía de aproximación. Aunque las células que producen los anticuerpos se pueden aislar con relativa facilidad, esto no serviría de nada a no ser por un fenómeno natural y un ardid científico fundamental. El fenómeno consiste en que cada célula B (las células que elaboran los anticuerpos) produce sólo un tipo de anticuerpo. ¿Puede una célula B, colocada en una cápsula de vidrio con nutrientes adecuados, crecer y dividirse hasta llegar a formar un clon de células idénticas, de modo que todas produzcan el mismo anticuerpo? Por desgracia, este primoroso plan tropieza con un sencillo, aunque profundo, obstáculo: las células B mueren pronto tras haberlas separado del cuerpo. No basta con este breve período de vida en el laboratorio para que puedan generar un clon de dimensiones adecuadas como para averiguar con exactitud qué tipo de anticuerpo produce, lo que debería permitir obtenerlo en cantidades suficientes para su aplicación práctica.

Köhler y Milstein inventaron un ardid que resuelve este problema. Aunque parezca absurdo, este descubrimiento, que tanto promete en la lucha contra el cáncer, se basa en la utilización de células cancerosas. A diferencia de las células normales, las cancerosas pueden cultivarse con relativa facilidad. En condiciones de laboratorio apropiadas pueden crecer y dividirse virtualmente de modo indefinido. Combinando la habilidad de las células B para producir anticuerpos con la casi inmortalidad de las células cancerosas, se pueden obtener grandes cantidades de anticuerpos monoclonales. Sorprendentemente, esto se puede realizar de manera muy sencilla. De la fusión de una célula B con una célula cancerosa se forma una célula híbrida llamada hibridoma, que tiene las propiedades de ambas células originarias: produce anticuerpos y vive mucho tiempo. Al principio representó una ardua tarea perfeccionar un método para obtener tales hibridomas, pero al cabo

de unos años del éxito original de Milstein y Köhler se ha perfeccionado la técnica y en la actualidad es de uso común en muchísimos laboratorios.

Ambos tipos de células, huelga decirlo, no producen un hibridoma por propio acuerdo. La pericia de los biotecnólogos consiste en modificar el ambiente celular para inducirlas a ello. Primero se conseguía mezclando las células con virus, lo cual afectaba a sus membranas, que por coalescencia formaban una membrana única alrededor del contenido original de ambas. Más recientemente se descubrió que una sencilla sustancia química, el polietilenglicol, realiza mejor tal función.

Las células utilizadas en la mayoría de los casos son células de bazo de ratón y células de mieloma de ratón, forma cancerosa de células B. El primer paso consiste en asegurarse de que el bazo de ratón contiene el mayor número posible de células B que elaboran el anticuerpo deseado. Una de las aplicaciones de la técnica del hibridoma que más éxito ha conseguido ha sido la producción de anticuerpos monoclonales que reconozcan las moléculas de interferón, la sustancia natural que ayuda al organismo a rechazar la infección vírica y que se puede utilizar para combatir el cáncer (véanse las páginas 107 y 149). Con aquella finalidad se inyecta al ratón una mezcla de materiales que se sabe contiene interferón (fig. 4-2). Esta mezcla puede obtenerse, por ejemplo, de la sangre de alguien aquejado de una infección vírica. Entonces, las sustancias de la mezcla actúan como antígenos y estimulan al ratón a producir muchas células de bazo que elaboren anticuerpos contra estas sustancias extrañas, el anticuerpo para el interferón entre ellas. Se trata exactamente del mismo tipo de respuesta inmunitaria que hace eficaz la vacunación del hombre contra las enfermedades infecciosas. En la vacunación se introducen en el cuerpo microorganismos muertos o francamente atenuados, con lo cual el sistema inmunitario produce anticuerpos contra los materiales extraños, de modo que habiendo «aprendido» a reconocerlos, dicho sistema inmunitario está preparado para atajar cualquier invasión posterior de organismos virulentos del mismo tipo.

Una vez asegurado que el bazo del ratón tiene muchas células B contra el interferón, se extirpa y desmenuza dicho órgano. Luego se procede a juntar unos cincuenta millones de células de

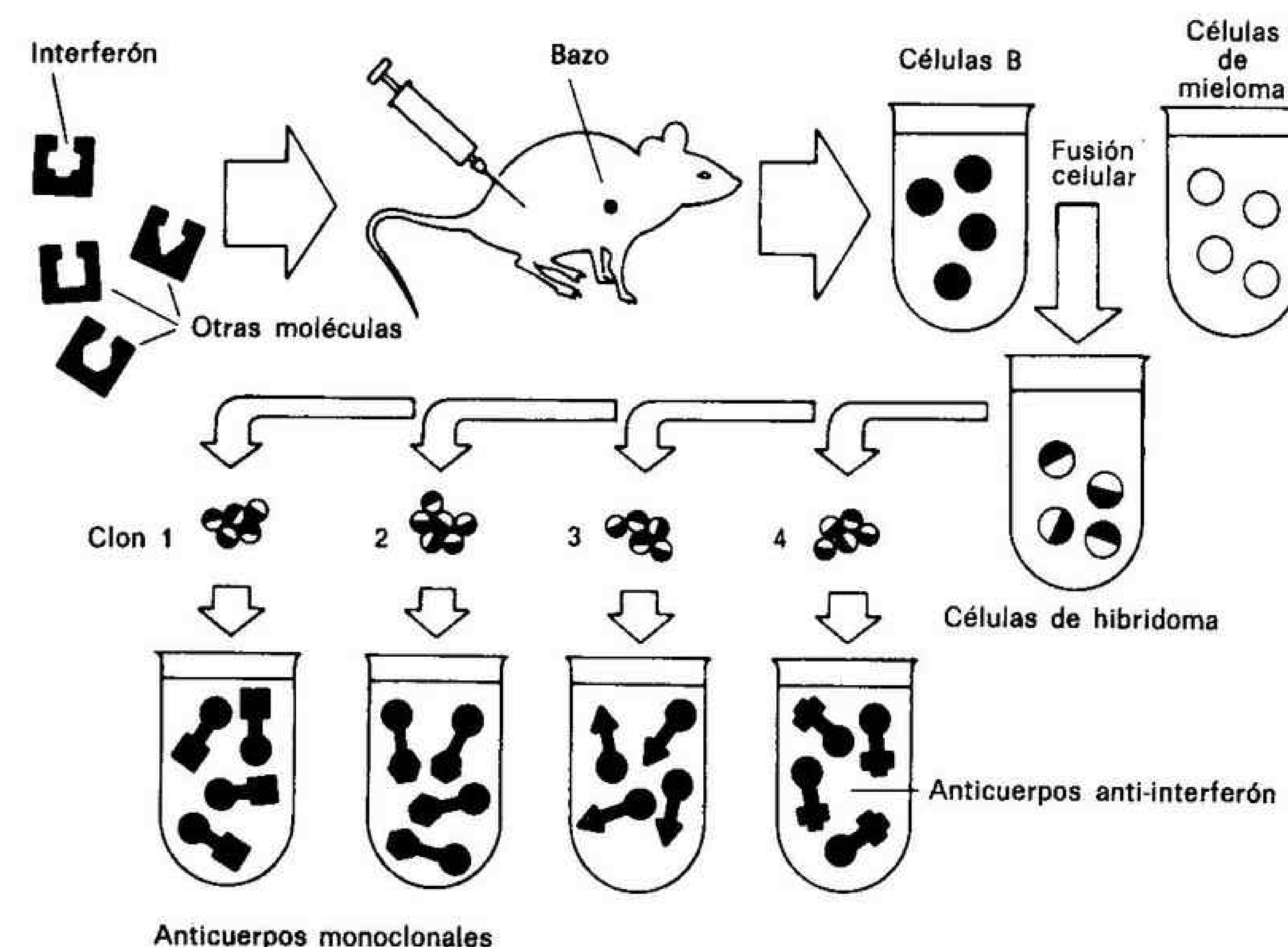


Fig. 4-2. Producción de las células de hibridoma que producen los anticuerpos monoclonales que reconocen y capturan las moléculas de interferón. Se inyecta una mezcla de pequeñas cantidades de interferón a un ratón. Pocos días después de la inoculación, se extirpa el bazo del ratón, y sus células B, algunas de las cuales producirán anticuerpos que reconocen el interferón, se fusionan con células de mieloma carcinógeno para originar hibridomas. Se separa cada clon de hibridoma de los demás y se evalúa su facultad de producir anticuerpos antiinterferón.

mieloma con aproximadamente el doble de células B del bazo y se añade polietilenglicol. Sólo una pequeña fracción de este ingente número de células se fusionará en el sentido esperado, y de éstas únicamente algunas serán del tipo de hibridoma requerido. Luego resulta fácil la eliminación de las células B, pues mueren pronto, y se matan las células de mieloma inalteradas con una mezcla de sustancias químicas, conocida por sus iniciales: HAT.

Después se cultivan por separado los numerosísimos hibridomas maduros, a fin de obtener clones grandes y poder analizar el producto anticuerpo de cada clon para ver cuál de ellos reacciona con el interferón. Finalmente, con un poco de suerte, puede descubrirse el clon buscado y utilizarlo ya de inmediato para producir grandes cantidades del anticuerpo o bien congelarlo hasta que se requiera su

utilización. Compárese este resultado final con la población mezcla de anticuerpos presente en un antisuero corriente (fig. 4-3).

En teoría, y en la práctica cada vez más, los biotecnólogos pueden desarrollar anticuerpos monoclonales que sean específicos para virtualmente cualquier sustancia de primordial interés médico. Las páginas de innumerables revistas científicas están repletas de detalles acerca de experimentos en que se emplean anticuerpos monoclonales de mil maneras distintas: desde el reconocimiento de las células cancerosas hasta la investigación del sistema nervioso de las sanguijuelas gigantes. En los últimos diez años, esta nueva técnica ha desempeñado un papel importantísimo en la investigación básica. Para satisfacer la demanda de anticuerpos monoclonales, empresas de extraños hombres —Hydridtech, Celltech y Allergenetics— han proliferado como setas en los últimos quince años. En la actualidad existen decenas de lotes («kits») de reactivos basados en los anticuerpos monoclonales para su utilización en el diagnóstico. Por su importancia económica, cabe citar a los empleados en la detección del embarazo, la determinación de grupos sanguíneos y la detección de virus como el del sida y los de las hepatitis B y C.

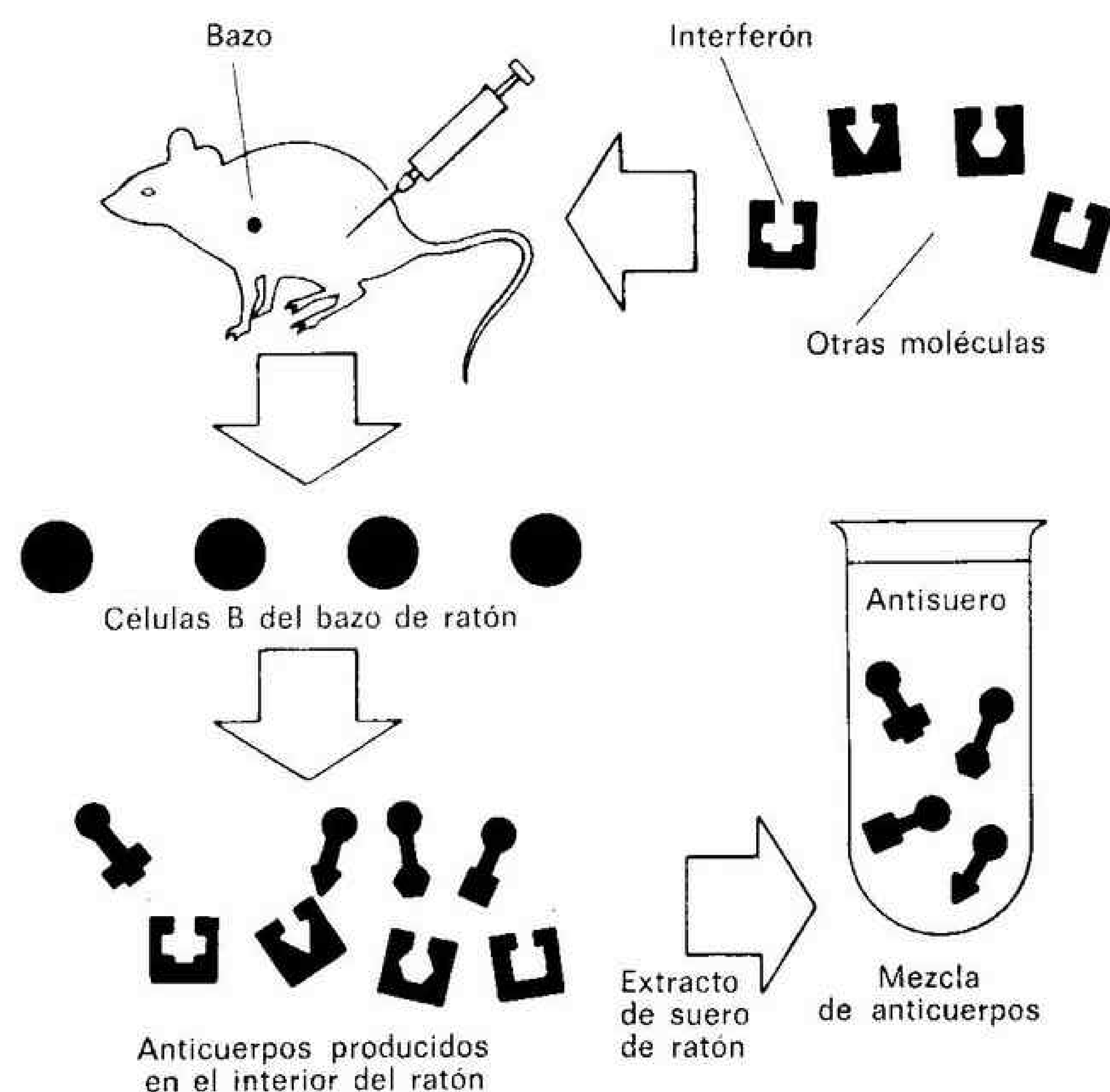


Fig. 4-3. Los antisueros tradicionales consisten en una mezcla de anticuerpos; los antisueros se han utilizado durante muchos años en el diagnóstico médico y, a veces, en la terapia. Se inocula a un ratón (o a menudo una cabra o un caballo) un material que contiene la sustancia contra la que se requieren anticuerpos. La sangre extraída de dicho animal contiene cierta cantidad de los anticuerpos deseados así como muchos otros materiales que no interesan. Dado que los antisueros tradicionales se obtienen a partir de animales vivos, el procedimiento es costoso y, además, presenta numerosas limitaciones.

Esta nueva tecnología está ocasionando gran repercusión en la práctica médica en todo el conjunto de las enfermedades humanas, desde el cáncer y la insuficiencia renal hasta las infecciones bacterianas o víricas. Las posibles aplicaciones de los anticuerpos monoclonales incluyen la potenciación de las defensas naturales del paciente, la mejora de las expectativas del éxito en el trasplante de órganos, mayor precisión en la aplicación de los medicamentos hacia partes concretas del cuerpo y la purificación de los fármacos antes de administrarlos a los pacientes.

Tal como ya se ha descrito, la producción de anticuerpos monoclonales que atacan sólo las moléculas de interferón, con independencia de cualquier otra, constituye un ejemplo de este grupo final de aplicaciones. Dichos anticuerpos se pueden fijar en soportes que se guardan en un tubo; cuando se les añade una mezcla de materiales que contiene una pequeña cantidad de interferón, los anticuerpos bloquean las moléculas del interferón presentes en el caldo mientras que el resto pasa de largo. Luego se añaden sustancias químicas para romper el enlace entre el anticuerpo y el interferón, que se separa. Esta técnica produce una solución final cinco mil veces más rica en interferón que la mezcla original. Éste y otros usos de los anticuerpos monoclonales se basan en su sensible poder de discernimiento. Buscar una aguja en un pajar y hallarla no es problema si se dispone de un imán; por ello, cabe esperar que los anticuerpos monoclonales sirvan de imán para encontrar aquello que se busca.

Interferón: la alarma natural antivírica

La historia del interferón comenzó en 1957 en Londres, cuando Alick Isaacs y Jean Lindemann investigaban la respuesta del

organismo a las infecciones víricas. Dichos científicos observaron que las personas aquejadas de algún tipo de infección vírica raramente padecen al mismo tiempo de otra clase de infección por virus. Esto les intrigó, ya que es harto sabido que una infección bacteriana prepara el camino a otras, al estar debilitadas las defensas del paciente. ¿Por qué iban a ser distintas las infecciones víricas? Isaacs y Lindenmann desvelaron la incógnita al descubrir que, en respuesta a la invasión vírica, las células secretan una sustancia que actúa como señal de alarma, alertando a las células vecinas de la presencia de invasores y permitiendo así que se preparen frente a la inminencia del ataque. Dicha sustancia fue bautizada con el nombre de *interferón*, porque parecía interferir la propagación de la infección vírica.

En la actualidad se sabe que existe por lo menos una docena de tipos distintos de interferón producidos por las células humanas, todos los cuales son proteínas. Por otro lado, los interferones elaborados por las distintas especies animales son diferentes: el interferón de ratón tiene poco afecto en el ser humano.

Hasta 1980, las células humanas eran, obviamente, la única fuente de interferón humano. La mayor parte de la producción mundial procedía del laboratorio de Kari Cantell, de Helsinki, donde grandes cantidades de leucocitos obtenidos de donaciones se habían infectado con virus deliberadamente para estimular su producción de interferón. La pequeña cantidad de interferón fabricada por cada célula y la dificultad de separarlo de todos los demás materiales hacían que de la sangre de 90.000 donantes se obtuviese tan sólo un gramo de interferón en una forma además, que, en el mejor de los casos, era únicamente el uno por ciento pura. La escasez del interferón constituía una rígida traba para su investigación.

A pesar de estas dificultades, se iban acumulando pruebas a favor del valor de esta clase de sustancias para el tratamiento de ciertas enfermedades víricas y, tal vez, de algún tipo de cáncer. Y en 1980, noticias procedentes de Suiza prendieron la mecha de la esperanza: Charles Weissmann y sus colaboradores de Zurich comunicaron que habían sometido a clonación el gen para un tipo de interferón humano y lo habían introducido en una bacteria para que ésta lo fabricara. Otros investigadores también idearon métodos semejantes, de modo que en el término de sólo un año la producción mundial de interferón creció de manera fantástica, sus costes disminuyeron en un 90 % y —lo más importante— se pudo disponer de él en estado muy puro.

El fabuloso incremento en la disponsibilidad de interferón disparó las investigaciones sobre esta sustancia y las expectativas puestas en ella. Pero en estos últimos años las aguas han vuelto a su cauce, y actualmente el interferón tiene unas aplicaciones concretas y otras posibles, pero no universales. Hoy día se emplea combinado con diversos fármacos para combatir la hepatitis B, y las infecciones producidas por el virus varicela-zoster en pacientes con problemas inmunitarios. Aplicado mediante pulverización en las fosas nasales es útil para prevenir las infecciones víricas de las vías respiratorias superiores. Y respecto a los tumores malignos, es útil para combatir ciertos tipos de leucemia, los condilomas acuminados y el sarcoma de Kaposi, muy frecuente en los enfermos de sida.

Hasta hoy sólo se han escrito los primeros capítulos de la historia de los interferones y, sin lugar a dudas, ésta puede dar muchas vueltas antes de lograr descubrir por completo los poderes de estas sustancias enigmáticas. En los próximos años se impone ampliar los conocimientos actuales sobre su modo de acción, acerca de qué tipos de interferón son más adecuados para cada enfermedad y respecto a qué efectos secundarios desagradables produce. Se trata de tareas de investigación propias tanto de científicos como de médicos. Por su parte, los biotecnólogos intentan el desarrollo de más eficaces y baratos métodos de obtención para poder disponer de interferón para la investigación y, en su caso, para uso generalizado en medicina.

Vacunas antivíricas: la protección de las masas

En 1967, más de diez millones de personas fueron infectadas por el virus causante de la viruela y la enfermedad fue endémica en más de treinta países. En la actualidad esta terrible dolencia ha quedado borrada del mapa. Puede decirse que el programa de vacunación en masa contra la viruela de la Organización Mundial de la Salud constituye el mayor triunfo de la moderna medicina y su

éxito arroja luz sobre los inmensos beneficios que pueden provenir del desarrollo de vacunas eficaces contra las enfermedades víricas. La poliomielitis, la fiebre amarilla, la rabia y la rubéola son únicamente una muestra de otras enfermedades víricas que hoy se pueden combatir por medio de vacunas. Sin embargo, otras enfermedades víricas, graves y muy difundidas, no cuentan por el momento con vacunas eficaces y baratas y los biotecnólogos se hallan en la primera línea de la batalla para ponerlas bajo control.

La Office of Technology Assessment de los Estados Unidos señala siete enfermedades víricas principales que requieren vacunas: hepatitis, gripe, herpes simple, parotiditis, sarampión, resfriado común y varicela. Los progresos obtenidos en el proceso de obtención de algunas de ellas ilustran muchos de los aspectos generales de la aproximación biotecnológica a la producción de vacunas contra los virus.

El método tradicional para producir vacunas antivíricas consiste en hacer crecer el virus dentro de un animal adecuado o, preferiblemente, en cultivos celulares de laboratorio. Luego se separan los virus y se matan o dañan gravemente antes de inyectarlos a seres humanos. En respuesta a estos extraños invasores, el sistema inmunitario corporal produce anticuerpos que pueden bloquearlos. Esto lleva algún tiempo, pero puesto que los virus están en forma benigna, el retraso no tiene importancia: los virus afectados o muertos no pueden producir daño alguno, mientras que el sistema inmunitario dispone de todas sus fuerzas. Si, más tarde, un virus vivo y totalmente activo del mismo tipo accede al cuerpo, el sistema inmunitario se encuentra ya preparado para actuar contra aquél.

La clave del asunto estriba en que a menudo no se dispone de un método adecuado para cultivar grandes cantidades de determinado virus. Los virus son seres extremadamente simples, formados únicamente por una pequeña cantidad de material genético encapsulado por una cubierta de proteína. Peter Medawar, eminente inmunólogo británico, ha definido los virus como «nada más que malas noticias envueltas en proteína». Por fortuna, como ya se ha explicado al considerar los anticuerpos monoclonales, el sistema inmunitario sólo reconoce las sustancias extrañas por sus rasgos exteriores, en este caso la cubierta proteínica del virus. Los

ingenieros genéticos aprovechan este hecho y tratan de conseguir por métodos biotecnológicos las proteínas que forman dicha cubierta. Para ello introducen en bacterias algunos de los genes que programan la fabricación de estas proteínas víricas; las bacterias fabricarán las proteínas, pero desde luego no producirán el virus completo.

Ya se han obtenido con este método éxitos espectaculares, como la obtención de las vacunas contra las hepatitis A y B. Esta última se transmite por vía sanguínea, y es la causa de numerosas infecciones hepáticas graves que en ocasiones terminan con la muerte del enfermo. En 1983 se obtuvo por vez primera con el método biotecnológico mencionado antes una vacuna contra la hepatitis B, y en 1986 se llevaron a cabo las primeras pruebas clínicas a gran escala. En la actualidad su administración obligatoria en la infancia se está extendiendo en los países desarrollados.

En cuanto a la hepatitis A, su curso clínico suele ser más benigno, pero es mucho más frecuente. También se ha desarrollado una vacuna biotecnológica contra el virus causante de este tipo de hepatits, aunque debido a su elevado coste sólo se administra en la actualidad a los grupos de riesgo elevado (como los turistas que viajan a zonas en las que esta enfermedad es endémica).

La ingeniería genética no sólo promete ofrecer protección ante las enfermedades que no se pueden curar con las vacunas tradicionales, sino que también puede ofrecer versiones más seguras de vacunas antivíricas ya existentes. En estas vacunas no se emplearán virus enteros, sino únicamente una de sus proteínas producidas por bacterias, con lo cual se elimina el riesgo de que virus vivos puedan contaminar la vacuna. Esto es algo muy raro en la actualidad, pero para ello es preciso invertir mucho tiempo y dinero en procedimientos encaminados a asegurar que no se produzca un accidente de este tipo.

Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)

Hace tan sólo una década, casi nadie conocía el término síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En la actualidad, el sida causa gran inquietud en la clase médica y la opinión pública. La abrumadora reacción que ha suscitado el sida obedece a numero-

sos motivos: la imprevista aparición de esta insidiosa y mortal enfermedad ha despertado el miedo latente a lo desconocido; los inmensos efectos sociales de la propagación de la enfermedad en determinados países no tiene paralelo con ningún otro caso reciente; y la reacción de la prensa ha sido extrema y en algunos casos irracional.

Cuando en 1981 se descubrio por primera vez el sida, estaba restringido casi por completo a unos grupos concretos y minoritarios: homosexuales varones, consumidores de droga por vía intravenosa y hemofílicos. Pero actualmente es cada vez mayor el número de afectados por el sida que no pertenecen a dichos grupos. Los efectos de la enfermedad varían considerablemente, aunque el más característico es la radical disminución de la capacidad del paciente para afrontar las infecciones (deficiencia inmunitaria). Los efectos debilitantes del sida conducen a menudo a un tipo de cáncer antes raro, el sarcoma de Kaposi, y a neumonías muy graves. Una vez contraído el sida, las probabilidades de superarlo son muy escasas.

En 1984, científicos franceses y norteamericanos descubrieron el probable germen causal de la enfermedad, un virus que denominaron HIV y que puede transmitirse mediante contactos íntimos con algún portador de la enfermedad, ya sea por contacto sexual o por contacto con sangre infectada. Los médicos y los científicos no han encontrado todavía formas eficaces de prevenir y tratar el sida, aunque se presta mucha atención a los enfoques biotecnológicos.

El sida se ha cebado en buen número de pacientes de hemofilia, que contrajeron la enfermedad al administrarles proteínas sanguíneas contaminadas por el virus. Los hemofílicos necesitan recibir determinadas proteínas (factor VIII o factor IX, véase la página 139) para contribuir a que su sangre se coagule correctamente y prevenir las homorragias. Dichas proteínas se extraen de la sangre de donantes, y si ésta proviene de alguien infectado por el sida puede transmitir la enfermedad. En la actualidad se han desarrollado nuevos métodos para matar los virus presentes en la sangre, pero los biotecnólogos proyectan asimismo obtener proteínas para la coagulación a partir de microorganismos, con lo cual se elimina la posibilidad de una infección vírica. Se han dado los

primeros pasos en el proceso de obtención de proteínas antihemofilia por ingeniería genética sometiendo a clonación los genes para el factor VIII y para el factor IX y la producción en pequeña escala de las correspondientes proteínas por bacterias.

Otro avance importante, logrado en 1985, fue el hallazgo de la estructura genética del virus del sida. Como ya se ha señalado anteriormente (pág. 110), el conocimiento de la cubierta proteica del virus (elaborada de acuerdo con la información genética del propio virus) es parte fundamental del desarrollo de vacunas por ingeniería genética.

Enfermedades tropicales: el enemigo interior

Más de mil millones de personas viven en las zonas cálidas bajo la amenaza de las dolorosas y mutiladoras enfermedades tropicales, que anualmente se cobran millones de vidas humanas. Pero lo más peligroso estriba en que, en muchas regiones, estas enfermedades no retroceden sino que se vuelven más comunes. El mayor beneficio que la biotecnología aportaría a la humanidad sería el de disminuir el azote que tales enfermedades representan.

Existe una clara posibilidad de que la ingeniería genética pueda producir nuevas y eficaces vacunas contra muchas enfermedades tropicales, aunque los anticuerpos monoclonales también adquirirán gran importancia en el futuro inmediato. El mayor problema con que se enfrentan los médicos, especialmente aquellos que trabajan en clínicas y hospitales pobremente dotados, consiste en establecer diagnósticos precisos de las enfermedades. Sería de inmensa utilidad un conjunto de preparaciones de anticuerpos monoclonales que se pudieran utilizar para reconocer parásitos específicos (figura 4-4). Se está en los inicios de la producción de anticuerpos monoclonales capaces de reconocer rasgos característicos de parásitos determinados y cabe que dentro de muy pocos años sea posible su utilización en pruebas sencillas.

En 1975, el Programa de Desarrollo de las Naciones Unidas, el Banco Mundial y la Organización Mundial de la Salud establecieron un programa especial para la investigación y tratamiento de las enfermedades tropicales, en que se decidió luchar coordinadamente contra seis enfermedades, dos de las cuales —malaria y le-

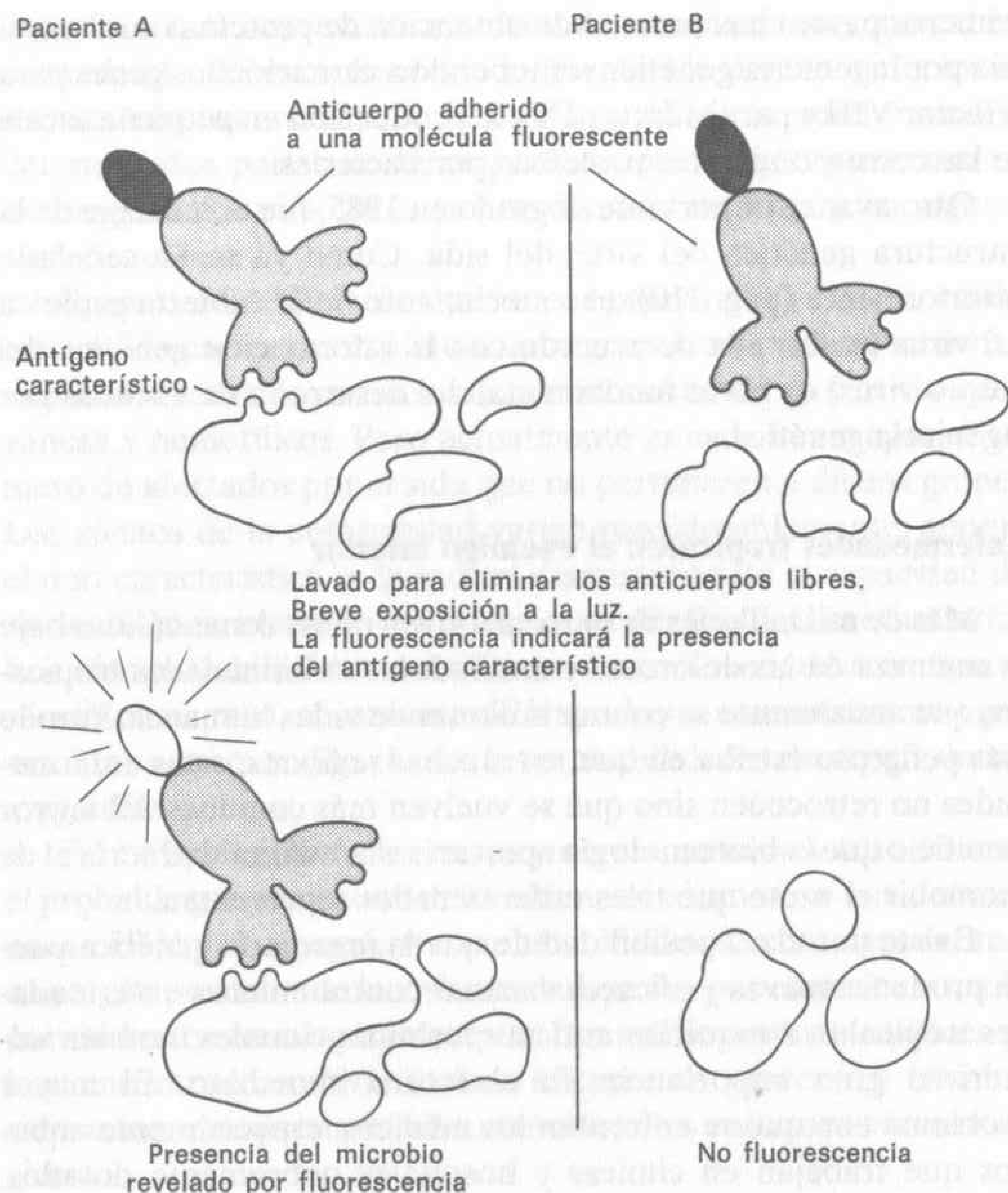


Fig. 4-4. Los anticuerpos monoclonales en el diagnóstico. La presencia de sustancias específicas en muestras tomadas a un paciente ayuda a los médicos en el diagnóstico de una enfermedad. Los microbios, los virus, las proteínas y otras muchas sustancias son antígenos muy característicos. Los anticuerpos monoclonales que reconocen antígenos específicos pueden adherirse a moléculas fluorescentes que resplandecen bajo luz ultravioleta. Después, estos anticuerpos fluorescentes se añaden a una muestra de sangre u otro material procedente del paciente. Si hay el antígeno en cuestión, los anticuerpos lo revelarán. A continuación se lava la muestra para eliminar los anticuerpos libres. Cualquier luz emitida después del proceso de lavado pondrá de manifiesto la presencia del antígeno específico para el cual se ha preparado la prueba. Los marcadores fluorescentes son tan sólo una de las varias posibilidades existentes para hacer visible la presencia de anticuerpos. Pueden emplearse también marcadores radiactivos.

pra— son conocidas mundialmente, mientras que las otras cuatro —filariasis, leishmaniasis, esquistosomiasis y tripanosomiasis—, aunque menos familiares quizá, son igualmente peligrosas. Los trabajos llevados a cabo por los biotecnólogos revelan indicios de éxito en el tratamiento de tres de dichas enfermedades: malaria, lepra y leishmaniasis.

Malaria

Mediado este siglo parecía posible que si bien no erradicada por completo, se pudiera desposeer a la malaria de su carácter de causante principal de muerte en muchos países. Veinte años después se había disipado tal esperanza. Han sido infructuosos todos los esfuerzos que la ciencia y la medicina han dirigido contra la malaria y se ha establecido de nuevo en zonas donde se había erradicado. Actualmente se estima que existen unos trescientos millones de casos de malaria, mientras que únicamente en África puede que produzca la cifra de un millón de muertes anuales.

Se había generado tal optimismo por el éxito inicial de dos fuertes golpes asestados a la malaria: era posible, mediante el uso de determinadas sustancias químicas, matar al mismísimo agente de la enfermedad, mientras que, por otro lado, el DDT y otros insecticidas mantenían a raya los mosquitos que propagan la enfermedad de individuo a individuo. Pero de manera creciente, tanto los parásitos como los mosquitos desarrollaron resistencia a los productos químicos que antes los eliminaban con facilidad. De modo que se precisaban urgentemente nuevos métodos; la producción de vacunas mediante la biotecnología es actualmente una posibilidad real.

Los escalofríos, fiebre y transpiración profusa, tan característicos de las infecciones de malaria, constituyen la respuesta corporal a millones de diminutos organismos unicelulares que invaden los glóbulos rojos del paciente. Los parásitos de la malaria, *Plasmodium*, no son bacterias, sino que pertenecen al grupo de organismos conocidos con el nombre de protozoos. Del mismo modo que las células humanas, tienen un núcleo perfectamente diferenciado que contiene su ADN, y no les afectan los antibióticos que matan a las bacterias.

Los parásitos de la malaria pasan de persona a persona por medio de mosquitos hembra que se alimentan de sangre humana, y resulta casi imposible contraer directamente esta dolencia de una persona infectada. Los *Plasmodium*, inyectados en el torrente circulatorio por la picadura del mosquito, migran hacia el hígado y allí proliferan. En un corto plazo pueden originarse hasta 30.000 microbios en cada célula hepática e invadir los glóbulos rojos, donde los *Plasmodium* crecen y se multiplican hasta que finalmente estallan y parten en busca de células frescas para infectarlas. De modo sorprendente, los millones de individuos de *Plasmodium* actúan de consuno, abandonan casi todos al mismo tiempo las células infectadas, y este proceso se repite cada dos o tres días. Esto queda reflejado en la naturaleza cíclica de las fiebres de la malaria, en que períodos de relativa calma dan paso a bruscos estados agudos.

Juega a favor del parásito de la malaria el que mientras se encuentra en el interior de las células sanguíneas queda fuera del alcance del sistema inmunitario del paciente. Pero está expuesto a peligros durante el breve intervalo que media entre su paso de una célula a otra. Resulta, pues, evidente que el sistema inmunitario humano a menudo es impotente para actuar a tiempo. Una buena vacuna que «enseñara» al organismo a producir anticuerpos contra los parásitos de la malaria antes de que se produjera la infección, cambiaría la situación y las personas que habitan en las regiones de alto riesgo serían capaces de rechazar el parásito tan pronto como éste penetrara; en la actualidad, el número de los que pueden hacerlo es escaso. Sin vacuna, el inevitable tiempo que transcurre mientras se organizan las defensas inmunitarias permite al parásito multiplicar sus fuerzas.

En 1976, William Trager, de la New York's Rockefeller University, descubrió la manera de cultivar los *Plasmodium* en el laboratorio, lo que permitió abrigar esperanzas de que ello posibilitaría la obtención de vacunas contra la malaria. A este fin se intentaron los métodos estándares de cultivo del parásito en grandes cantidades y su posterior debilitamiento o muerte, e inoculación al hombre. Aunque los primeros ensayos en animales resultaron esperanzadores, apareció un gran obstáculo, quizás insuperable. En el laboratorio se habían cultivado los parásitos en el interior de células sanguíneas, y a menos que antes de inyectar los plasmodios atenuados al torrente circulatorio humano se eliminaran todos los restos de estas células sanguíneas, éstas provocaban igualmente una reacción de defensa de la misma naturaleza que la desencadenada por el propio parásito, con resultados nefastos.

Algunos científicos —en especial Ruth Nussenzweig y sus colaboradores de la Universidad de Nueva York— han obtenido anticuerpos monoclonales que reconocen una proteína de superficie de *Plasmodium*, y los ratones y monos a los que se han inyectado dichos anticuerpos resisten las infecciones de malaria. Cabe, por tanto, que este descubrimiento pueda constituir la base de un programa de inmunización pasiva, denominada así porque la protección depende de anticuerpos extraños inyectados al cuerpo y no de anticuerpos producidos por el propio sistema inmunitario del organismo, tal como sucede en la inmunización activa.

Pero la línea de investigación que suscita mayores esperanzas es la encaminada a obtener una vacuna eficaz contra el parásito. Existe ya una vacuna que en los ensayos clínicos efectuados ha resultado eficaz en el 40 % de los casos, y que en la actualidad se está probando a gran escala. Dicha vacuna ha sido desarrollada por Manuel E. Patarroyo, del Hospital de San Juan de Dios de Bogotá, y consiste en inyectar como antígeno un fragmento de proteína sintetizado artificialmente que es igual a uno que se encuentra en la cubierta del microbio.

Tripanosomas: amenaza múltiple y de mil caras

El término tripanosomiasis designa un conjunto de enfermedades tropicales, de difícil tratamiento, causadas, en cada caso, por una especie distinta de un grupo de protozoos llamados tripanosomas. Las dos formas más comunes de tales enfermedades son la enfermedad de Chagas, que afecta a diez millones de personas en América del Sur, y la africana enfermedad del sueño, que anualmente aqueja a diez mil personas. En la enfermedad de Chagas, el *Trypanosoma cruzi* invade el corazón, el sistema nervioso y el intestino y resulta especialmente mortal en la infancia. Las dos especies de tripanosomas responsables de la enfermedad del sue-

ño también atacan el sistema nervioso y, a menos que sea tratada, la enfermedad resulta siempre mortal. El efecto indirecto de los tripanosomas en el bienestar humano es también grande. Otras especies de tripanosomas infectan el ganado vacuno (matan tres millones de cabezas al año), el ovino y el caprino, y con ello impiden a los habitantes de vastas regiones africanas la cría de estos animales para su sustento.

Es preciso indicar al respecto, que probablemente la biotecnología tenga poco que decir, a plazo breve, en la solución de este problema. Hay, sin embargo, una contribución que la biotecnología podría hacer, y una breve consideración de la naturaleza de los tripanosomas permite poner de relieve el arduo trabajo que entraña vencer la natural astucia de tales organismos parásitos.

El trabajo llevado a cabo por los inmunólogos, y más recientemente por los biólogos especialistas en moléculas, ha puesto de manifiesto la notabilísima estrategia de estos organismos para evitar el sistema inmunitario humano. En realidad, los tripanosomas son maestros en el arte de camuflarse. Así, mientras los antígenos de superficie de la mayoría de las células son relativamente constantes (aquellos que están presentes un día lo estarán, probablemente, al siguiente), los tripanosomas resultan bastante diferentes en este aspecto: pueden escoger con qué vestirse en un bien pertrechado «guardarropa». Cuando el sistema inmunitario del paciente no ha aprendido todavía a reconocer el tripanosoma por uno de sus conjuntos de antígenos, el tripanosoma los sustituye por otro lote de reserva, de modo que debe empezar de nuevo todo el proceso de reconocimiento del intruso, el cual se repite casi indefinidamente. En consecuencia, el sistema inmunitario nunca está en condiciones de plantar cara eficazmente a tan camaleónicos organismos.

Este comportamiento se debe a la facultad del tripanosoma para activar y desactivar una batería de genes distintos, cada uno de los cuales codifica antígenos diferentes. Esto elimina cualquier razonable esperanza de poder obtener vacunas contra la enfermedad, ya que se necesitarían docenas de vacunas distintas, una para cada uno de los numerosos disfraces del organismo. Quizá la única cosa buena que puede decirse de estos detestables seres es que su estudio ha proporcionado muchísimos conocimientos acerca de

cómo pueden modificarse los genes, conocimientos que quizá puedan contribuir a aplicaciones nuevas de la ingeniería genética.

La biotecnología, sin embargo, podría ayudar a combatir la enfermedad del sueño con la producción de dos tipos de proteínas. Recientemente, un medicamento utilizado en la terapia del cáncer, la daunorrubicina, se ha mostrado activo contra los tripanosomas si previamente se une a la albúmina o la ferritina, dos proteínas que se encuentran en el torrente circulatorio. La disponibilidad de ambas proteínas es, por el momento, limitada. Si han de formar parte del tratamiento de la enfermedad del sueño sería menester que los biotecnólogos lograran producirlas en cantidades suficientes, probablemente con la introducción de los genes apropiados en bacterias y posterior purificación de la proteína obtenida de este modo.

Lepra: mitos, falsos conceptos y medicina moderna

Otras enfermedades pueden haber originado más leyendas, pero pocas tan arraigadas como las referentes a la lepra. Se la considera una enfermedad altamente contagiosa, pero, en realidad, alrededor del 95 % de la población es probablemente inmune a la enfermedad y sólo aquellos individuos susceptibles pueden contraerla después de una larga exposición. Otro mito sostiene, equivocadamente, que la lepra origina la caída de partes del cuerpo, pero lo que produce es torpor o insensibilidad en las extremidades corporales, lo que hace al enfermo más vulnerable a las heridas accidentales. Finalmente, si bien es cierto que una abrumadora mayoría de los leprosos viven en los países tropicales, la enfermedad no es desconocida en otras partes. Así, por ejemplo, existen más de cuatro mil casos en los Estados Unidos de América entre los emigrantes recientes, y hace tan sólo cien años existía aún una leprosería en la septentrional Noruega.

La lepra, producida por la bacteria *Mycobacterium leprae*, afecta a unos once millones de personas. Hasta hace poco tiempo, el fármaco dapsona constituía la base de cualquier tratamiento eficaz de la enfermedad, pero el alarmante incremento de la resistencia del microbio a la dapsona exige nuevos tipos de terapia con

costos mucho más elevados para los pobres países donde la lepra es común.

Uno de los principales objetivos del programa especial, antes mencionado, estriba en el desarrollo de pruebas cutáneas fiables para detectar las personas que presentan determinado riesgo para la enfermedad. Las bacterias de la lepra infectan muy pocas especies animales, y constituye una excepción harto sorprendente el armadillo de nueve bandas. Se han utilizado bacterias purificadas obtenidas en armadillo en pruebas en pequeña escala, aunque ello no resulte viable para su uso generalizado. Se precisa, sin duda, una vacuna, pero, por el momento, no existe modo de cultivar las bacterias en el laboratorio con las que luego poder preparar la vacuna. Por desgracia, se realizan pocas investigaciones para resolver este importante problema.

Liposomas: paquetes letales para los parásitos de la leishmania

En la actualidad, en el tratamiento de una de las enfermedades parasitarias más peligrosas, la leishmaniasis, se está probando en enfoque totalmente nuevo sobre una más eficaz administración de medicamentos, y esto se ha convertido, además, en un rasgo destacado de numerosos campos biotecnológicos. Los liposomas, corpúsculos pequeños de materias grasas, pueden aportar potentes venenos a las células infectadas por los parásitos causantes de la leishmaniasis. Puesto que muchos millones de personas están afectadas por tales parásitos, los liposomas podrían desempeñar, sin lugar a dudas, un gran papel en la consecución del bienestar de la humanidad.

Las membranas que forman estas partes tan vitales de la célula contienen grandes cantidades de fosfolípidos. Los numerosos tipos de fosfolípidos tienen, sin embargo, la misma estructura: dos largas «colas», constituidas por materias grasas, y una «cabeza», que contiene átomos de nitrógeno, oxígeno y fósforo. Es de sobra conocido el comportamiento de las grasas y los aceites, que tienden a agregarse en gotitas cuando se vierten al agua, en lugar de esparcirse por su superficie. Las sustancias que actúan así se denominan hidrófobas (fobia al agua). Las colas grasas de los fosfolípidos (sus partes de lípidos) son hidrófobas y rehúyen el contacto con el agua, mientras que las cabezas de sus moléculas buscan ávidamente el contacto con moléculas de agua, por lo que se dice que son hidrófilas. En la figura 4-5 se ilustra la manera tan eficaz de reconciliar estas dos inclinaciones opuestas de la molécula de fosfolípido.

Los científicos se basaron en este fenómeno natural para dar una explicación al modo de ensamblarse de los fosfolípidos en esferas huecas, denominadas liposomas. Algunos están formados por sólo una esfera, pero otros están constituidos por varias envolturas de fosfolípidos encerradas una dentro de otra, como una muñeca rusa. Se puede utilizar el espacio interior para albergar cualquier tipo de sustancia, incluidos medicamentos. En los últimos años se ha investigado mucho acerca de las ventajas de envolver los medicamentos en el interior de los paquetes de liposomas, y el tratamiento de la leishmaniasis constituye una de las aplicaciones más prometedoras de ello.

La leishmaniasis afecta a unos cien millones de personas en

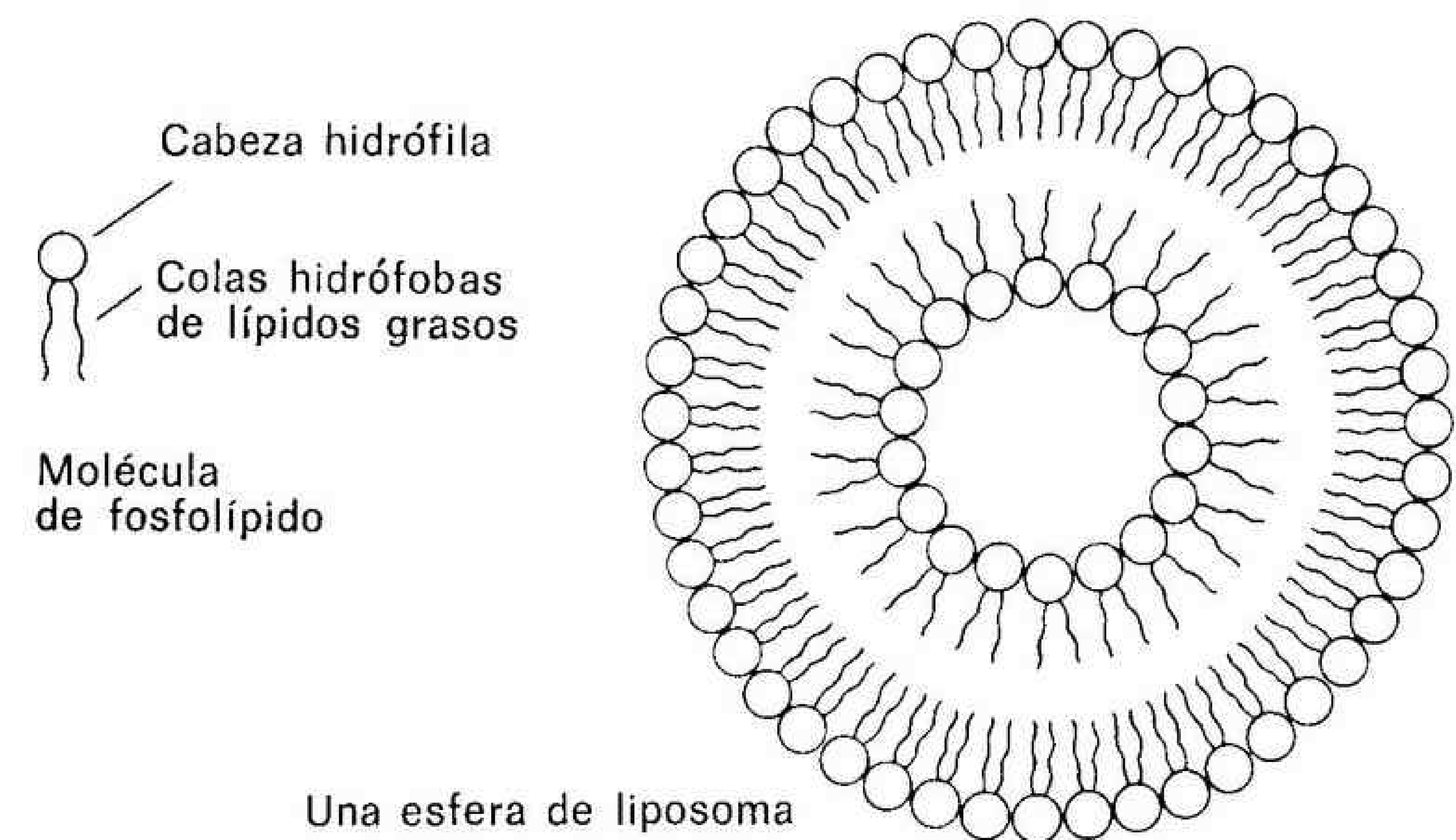


Fig. 4-5. Fosfolípidos y liposomas. Una molécula de fosfolípido presenta dos «colas» hidrófobas de lípido y una «cabeza» hidrófila. Cuando se mezclan grandes cantidades de fosfolípidos con agua, se organizan espontáneamente en estructuras esféricas, denominadas liposomas. La sección de un liposoma *(a la derecha)* muestra dos esferas concéntricas de fosfolípidos separadas por un espacio lleno de agua.

Centroamérica, Sudamérica, África, Asia y algunas regiones de la Europa meridional. La enfermedad puede revestir distintas formas, asociada cada una con diferente especie del protozoo *Leishmania.* La peor es el kala-azar, en que la *Leishmania donovani* invade el bazo, el hígado y la medula ósea, y produce una muerte segura a menos de que se reciba el tratamiento adecuado. En 1979, una epidemia de kala-azar afectó a más de setenta mil personas en el estado indio de Bihar y ocasionó más de cuatro mil muertos.

No existe una vacuna eficaz contra el kala-azar y suele tratarse con compuestos de antimonio, semejantes a los de arsénico, por lo que no resulta difícil de entender que su uso entraña el peligro muy real de envenenar a los pacientes en vez de sanarlos. Aunque los preparados modernos de antimonio son más seguros que los que se empleaban antes, persiste el problema: el antimonio no es bueno en absoluto para las células humanas.

Los liposomas ofrecen un considerable avance en cuanto a seguridad, ya que los compuestos de antimonio son unas setecientas veces más eficaces si primero se encapsulan en los liposomas. Esto no quiere decir que los pacientes sanen mucho más rápidamente, sino que así sólo se administra al enfermo parte de lo que antes constituía la necesaria dosis normal de medicamento, lo cual reduce mucho los riesgos. Parece que esta estratagema da resultado debido a que los liposomas inyectados al torrente circulatorio tienden a ser rápidamente absorbidos por los mismos tipos de células que coloniza el parásito *Leishmania,* de modo que los liposomas cargados de compuestos de antimonio los depositan, de preferencia, en el hígado o en el bazo, donde precisamente se necesitan.

Este método de administración de medicamentos podría extenderse al tratamiento de otras enfermedades que afecten principalmente a dichos órganos, y las investigaciones en curso indican que existen fundadas esperanzas de conseguirlo. Pero las posibilidades de los liposomas no acaban aquí. En el caso anterior, los liposomas tienden a albergarse únicamente en las células del hígado y del bazo, lo que limita su uso, pero, por fortuna, parece factible producir liposomas que se puedan dirigir contra distintos tipos de células. Esto puede lograrse, en alguna medida, alterando la

composición de los propios liposomas, por ejemplo, escogiendo entre distintas clases de fosfolípidos.

Es muy poco probable que la especificidad de los liposomas pueda llegar a compararse con la que ofrecen los anticuerpos, pero cabe que puedan combinarse tan dispares materiales y entonces quizá den lo mejor de sí. Podrían asociarse liposomas cargados de medicamentos a anticuerpos que reconocerían microbios específicos, de modo que mientras el anticuerpo constituiría el sistema de guía, el liposoma transportaría las «ojivas».

Los liposomas son particularmente adecuados para transportar sustancias por el organismo. Se han utilizado en experimentos llevados a cabo para introducir una amplia gama de materiales —antibióticos, enzimas, insulina e incluso compuestos de plutonio— en animales. Quizá su característica más importante estribe en su facultad de proteger los medicamentos u otros materiales de la destruccion por el hostil ambiente corporal. El caparazón del liposoma impide que los enzimas corporales ataquen los medicamentos antes de que éstos actúen. Por otro lado, los liposomas no son tóxicos ni provocan, de ordinario, la respuesta del sistema inmunitario.

ADN PEGAJOSO Y DIAGNÓSTICO MÉDICO

Un diagnóstico rápido y preciso es el primero y fundamental paso para la curación de una enfermedad. A veces, los síntomas que presenta el paciente son tan claros y característicos de determinada enfermedad, que los médicos tienen pocas dudas para establecer el diagnóstico correcto. En otros casos, un conjunto de síntomas pueden tener buen número de causas distintas: reconocer la enfermedad puede depender entonces de una serie de pruebas lentas, caras e inseguras.

Los anticuerpos monoclonales constituyen el instrumento más desarrollado que los biotecnólogos podrían emplear para reconocer enfermedades específicas (pág. 106), pero una técnica más reciente, aportada por la ingeniería genética, tal vez pueda llegar a ser más eficaz. Pueden utilizarse fragmentos pequeños de ADN, denominados sondas, para adherirse muy específicamente a deter-

minadas regiones de ADN. En este hecho se fundamentan numerosas aplicaciones de las sondas de ADN, tales como, por ejemplo, para saber si la sangre de un paciente contiene el ADN de determinada bacteria, lo que proporcionaría un diagnóstico seguro. En principio —y probablemente también en la práctica— será posible idear pruebas para detectar la presencia de virtualmente cualquier tipo de ADN que interese a los científicos o a los médicos. De este modo se podrá identificar la estructura genética de cualquier tipo de infección microbiana, detectar defectos genéticos o la contaminación de la sangre procedente de donación, elegir los órganos adecuados para los trasplantes o incluso ayudar a los mejoradores de vegetales a contrastar la calidad de sus semillas.

En la figura 4-6 se muestra cómo actúan las sondas de ADN. La técnica se basa en el hecho de que dos filamentos de ADN con secuencias «complementarias» de bases (véase la página 27) se adherirán. Para averiguar si una muestra contiene determinado tipo de ADN (por ejemplo, de un microbio), el biotecnólogo añadirá una sonda de ADN a la mezcla problema. Se habrá preparado la sonda de modo que sea complementaria de algún fragmento del ADN que se busca. Si la sonda encuentra su opuesto, se juntarán; hay diversos métodos para saber si esto ha sucedido. En cambio, la prueba dará resultado negativo si el ADN «buscado» no se halla presente.

Se dice que las sondas de ADN son miles de veces más sensibles que los métodos usuales de diagnóstico, basados en mezclas de anticuerpos extraídas de sangre animal. La gonorrea, enfermedad de transmisión sexual, es uno de los primeros objetivos de quienes producen sondas de ADN. En los Estados Unidos se realizan anualmente más de diez millones de pruebas de dicha enfermedad, con un coste unitario aproximado de 25 dólares. Las pruebas usuales suelen consistir en el cultivo de bacterias en el laboratorio durante cierto tiempo. Las sondas de ADN podrían ser más rápidas y más baratas e incluso advertir a los médicos si en determinada infección hay alguna cepa de microbios resistente a ciertos antibióticos.

De modo similar, las sondas de ADN se pueden emplear para asegurarse de que la sangre destinada a una transfusión no está contaminada por virus de la hepatitis o por otras sustancias dañi-

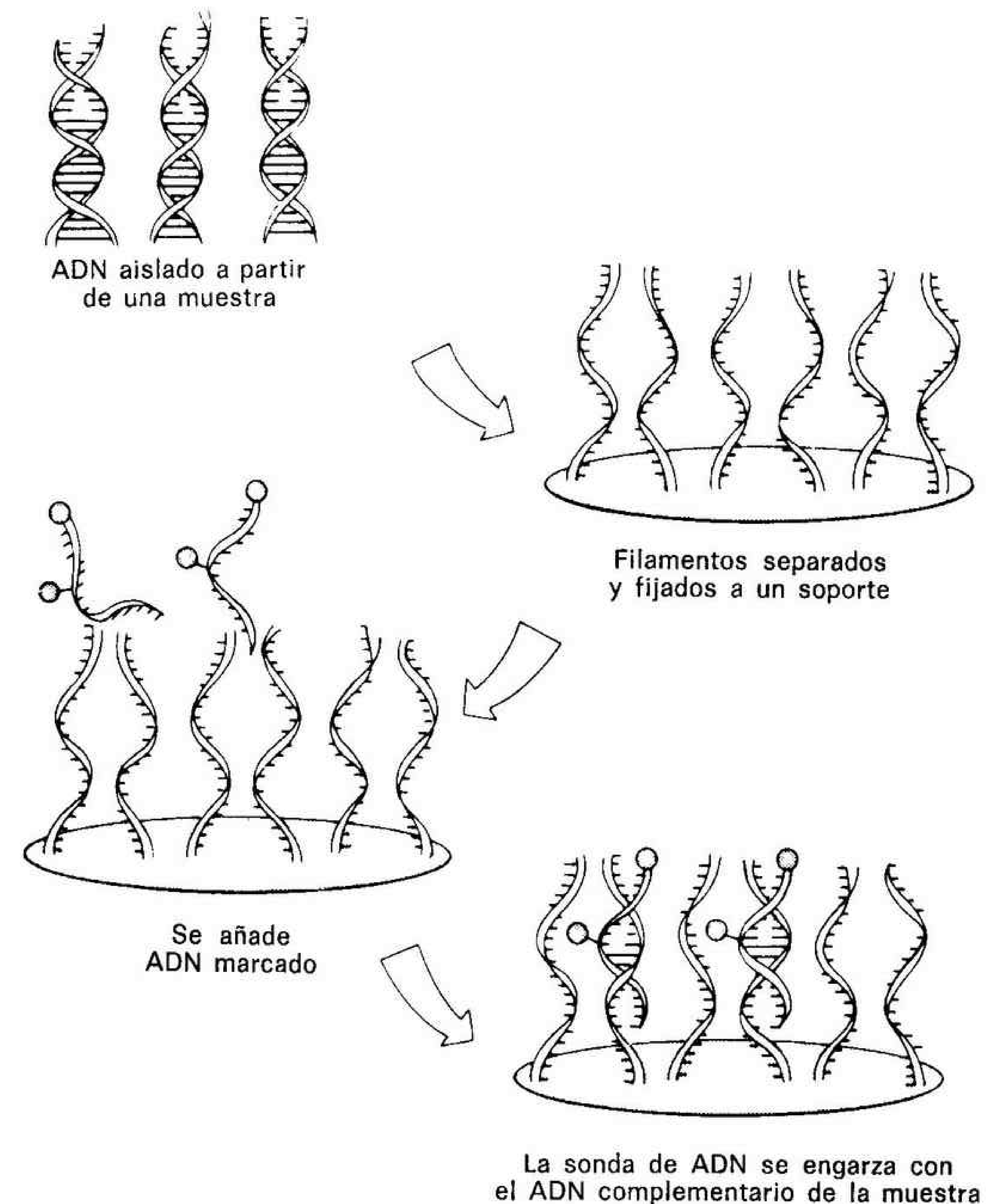


Fig. 4-6. Se extrae el ADN de doble filamento a partir de una muestra (por ejemplo, de células microbianas) y se fija a un soporte; después se añaden determinados productos químicos para separar los filamentos. Se introducen filamentos de ADN sencillos y complementarios de algún fragmento característico del ADN de la muestra. Dichos filamentos (las sondas) se han «marcado» previamente con algún material rápidamente detectable (por ejemplo, átomos radiactivos o sustancias fluorescentes). Las sondas se fijan en la muestra de ADN y a continuación se separan, por lavado, todas las que permanecen libres sin fijarse; luego se mide la cantidad de sondas fijadas al soporte mediante la muestra del ADN. Si la muestra de ADN no es del tipo de la sonda utilizada ésta no se fija y la prueba da un resultado negativo (aunque proporciona datos).

nas, o bien para comprobar que en los alimentos no hay contaminación bacteriana.

Ahora se están experimentando sondas de ADN para muchísimos propósitos, incluida la selección de órganos para trasplantes (pág. 156), así como el diagnóstico de algunas enfermedades genéticas, que se consideran en el apartado siguiente.

LA PCR, UNA NUEVA Y PODEROSA TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO

En 1985, K. B. Mullis y sus colaboradores de la empresa norteamericana Cetus pusieron a punto una técnica de análisis de la secuencia génica del ADN que en los años siguientes revolucionaría las investigaciones sobre la base genética de las enfermedades hereditarias y también los métodos de investigación mediante el análisis del ADN. Se trata de la llamada *reaccion en cadena de la polimerasa,* o, abreviadamente, *PCR* (de su nombre inglés, «Polimerase Chain Reaction»). Dicha técnica permite multiplicar por miles de millones el número de moléculas de un ADN determinado presentes en una muestra; y su sensibilidad es tan elevada, que para llevarla a cabo basta con el ADN presente en una sola célula.

La técnica PCR se basa en la amplificación selectiva de un fragmento de ADN a estudiar utilizando tres elementos básicos: el ADN problema (el «doble molde»), un par de pequeños segmentos de ADN (los «cebadores») cuya secuencia sea complementaria de la de los extremos de la región del ADN a amplificar (uno para cada cadena), y una ADN-polimerasa, es decir, un enzima que es capaz de sintetizar la cadena complementaria de cada una de las dos cadenas del ADN problema. Para actuar, la ADN-polimerasa sólo requiere un «molde» de ADN que copiar, y un «cebador» (un pequeño fragmento de ADN complementario de otro fragmento del molde) que le permite iniciar su trabajo. La ADN-polimerasa utilizada se extrae de una bacteria que vive en aguas termales, con lo que actúa a una temperatura muy elevada (72 °C), que permite trabajar con las dobles cadenas de ADN separadas.

Cada ciclo de duplicación del ADN en la técnica PCR consta en esencia de tres fases. En la primera, el ADN bicatenario se calienta hasta unos 94 °C con el fin de que se separen las dos cadenas. En la segunda fase se rebaja la temperatura hasta unos 50 °C en presencia de los cebadores, que se unen a los segmentos extremos complementarios de cada cadena. En la fase final,

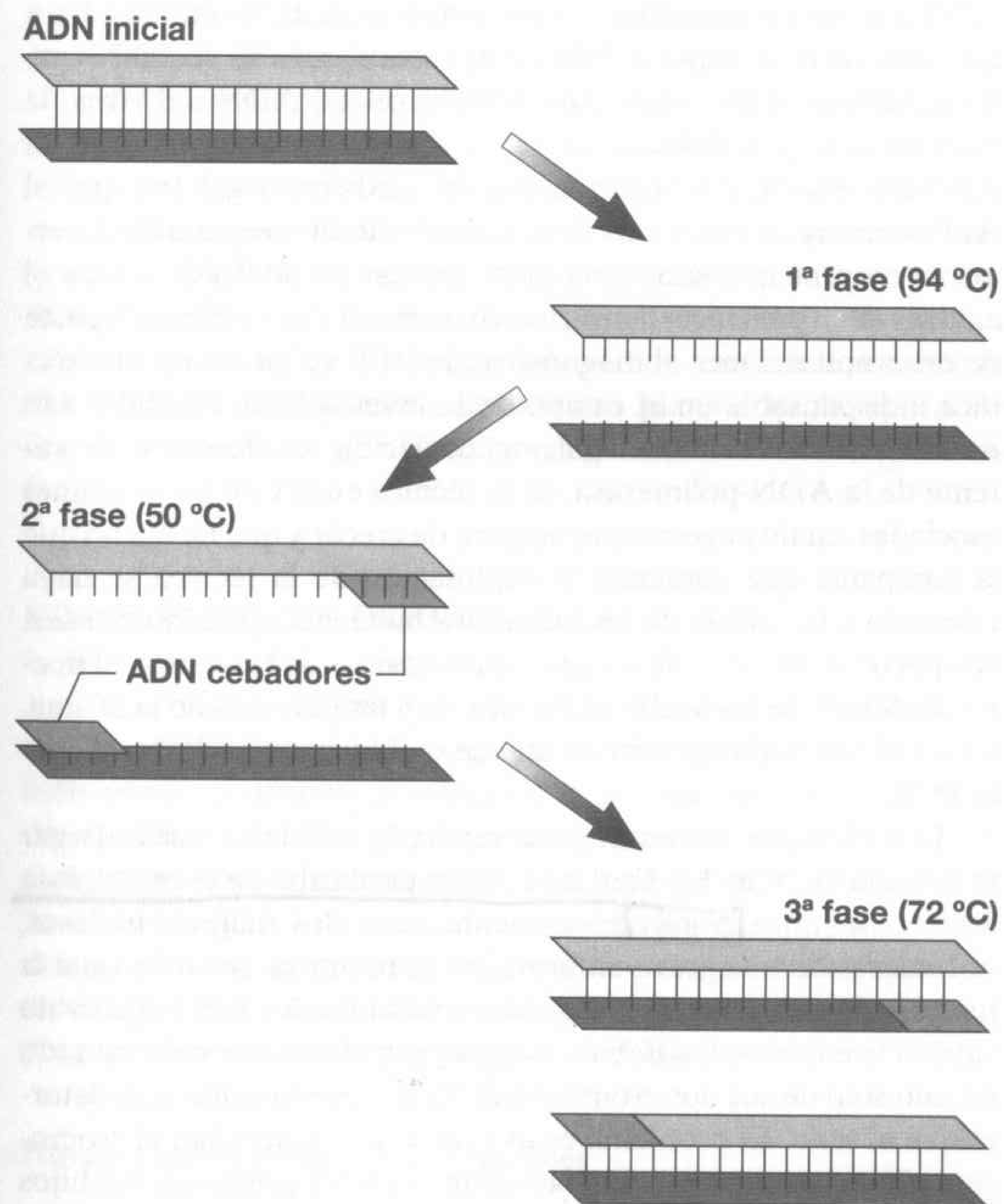


Fig. 4-7. Esquema del proceso de duplicación del ADN mediante la técnica de la PCR (explicación en el texto). No se ha representado el arrollamiento helicoidal del ADN para no complicar los dibujos.

la temperatura se eleva a 72 °C, con lo que entra en acción la ADN-polimerasa, de modo que sobre cada cadena se sintetiza la complementaria. A continuación se inicia de nuevo el ciclo incrementando la temperatura hasta los 94°, con lo que la polimerasa deja de actuar y las dos cadenas de cada ADN se separan.

Si el proceso se repite durante 30 o 60 ciclos, la potencia amplificadora de la técnica es tal que permite la observación directa del ADN a partir de muestras que contenían cantidades ínfimas. Para que esta técnica tenga utilidad diagnóstica, sólo se requiere que los cebadores sean segmentos específicos del ADN del virus, la bacteria o el gen defectuoso que se quiera diagnosticar. Por su potencia, está siendo introducida en medicina legal (ya que el ADN contenido en un cabello o en un resto de sangre o de esperma es en principio suficiente para realizar un análisis), y para el análisis de la presencia de ciertos virus en células o tejidos. Aparte de estas aplicaciones al diagnóstico, la PCR se ha vuelto una técnica indispensable en el campo de la investigación básica, y han habido sonadas batallas legales para decidir los derechos de patente de la ADN-polimerasa, de la técnica en sí y de las máquinas asociadas, en un negocio que no para de crecer y que ha hecho que la compañía que comenzó la explotación de la técnica se haya colocado a la cabeza de las industrias biotecnológicas mundiales. Respecto al inventor de los principios básicos de la técnica, el doctor K. Mullis, se ha hecho millonario con las patentes de la misma, y en 1993 recibió el premio Nobel de Química por el desarrollo de la PCR.

Dos ejemplos bastarán para ver hasta dónde se puede llegar utilizando la PCR. En abril de 1990 se publicaba en la prestigiosa revista científica *Nature* el siguiente caso: dos mujeres inglesas, portadoras de una grave enfermedad hereditaria, recurrieron a la fecundación «in vitro» para quedar embarazadas. Las mujeres no sufrían la enfermedad debido a que el gen afectado estaba situado en uno solo de sus dos cromosomas X, los cromosomas que determinan el sexo. El problema es que los varones heredan el cromosoma X de la madre (el sexo masculino es XY), por lo que los hijos varones de estas mujeres tienen un 50 % de probabilidades de heredar la enfermedad. Para evitar este problema, los médicos que atendían a estas mujeres analizaron el sexo de los embriones obtenidos por fecundación «in vitro» sólo tres días después de haberse producido, es decir, cuando éstos estaban formados por 8 células y aún no habían sido implantados en el útero materno. Gracias a la potencia de la PCR, bastó con extraer una sola de las ocho células de cada uno de los embriones, y realizar una PCR utilizando como cebadores segmentos que sólo existen en el ADN del cromosoma Y. Así, si los embriones eran masculinos, la PCR daría positiva, y si no sería negativa. Una vez realizado este análisis se implantaron solamente los embriones femeninos, y se evitó así transmitir la enfermedad hereditaria.

El otro ejemplo es igualmente ilustrativo. Gracias a la PCR, en 1993 se ha logrado analizar un fragmento del ADN de un insecto que había vivido hace ¡150 millones de años! El insecto había quedado atrapado en ámbar, y todavía quedaba la suficiente cantidad de ADN sin degradar como para servir de molde en una reacción de PCR. De este modo han podido analizarse secuencias del ADN de un habitante de nuestro planeta de la época de los dinosaurios, lo que tiene un gran interés en biología evolutiva.

CORRECCIÓN DE ERRORES NATURALES

De la misma manera que la biotecnología sirve para combatir enfermedades producidas por virus, bacterias o protozoos, también puede contribuir a remediar trastornos producidos por el desequilibrio del funcionamiento químico del organismo, tales como algunas enfermedades hereditarias. Hoy es posible preparar una enorme gama de compuestos naturales que pueden, o podrían, curar enfermedades como la diabetes, la artritis, las enfermedades óseas o los trastornos nerviosos, así como analgésicos o preparados para sanar quemaduras y heridas.

Hormonas: los mensajeros corporales

El cuerpo humano contiene un deslumbrante cortejo de hormonas distintas, cada una con una función vital de coordinación de las actividades de células y tejidos. Sin hormonas, las células

tendrían poca idea del estado general del cuerpo y desconocerían las funciones que se requieren de ellas en determinado momento para mantener el organismo funcionando correctamente. Las hormonas transportan todo tipo de datos: por ejemplo, qué tipo de alimento está disponible para su digestión, qué peligros las amenazan y, en consecuencia, qué células musculares deben prepararse para la acción o que una criatura se desarrolla en el útero.

No ha de sorprender, pues, que un defecto en un sistema hormonal pueda producir una enfermedad grave. A veces, cabe paliarla administrando al paciente cantidades adecuadas de determinada hormona, y la biotecnología puede contribuir a producirla.

Muchas hormonas están constituidas por cadenas de aminoácidos. La voz proteína suele reservarse para las cadenas que cuentan con veinte o más aminoácidos y algunas hormonas tienen, en realidad, cadenas muy cortas. Por dicho motivo se utiliza a menudo el término hormona polipeptídica para todas las hormonas constituidas por aminoácidos (derivado de la expresión enlace peptídico, que designa el enlace químico que se establece entre dos aminoácidos consecutivos de la cadena). La insulina es la hormona polipeptídica mejor conocida y se ha dedicado gran atención al estudio de su modo de mantener la debida concentración de azúcar en el torrente circulatorio y acerca de la manera en que pueden tratarse determinados tipos de diabetes mediante aporte de insulina extracorpórea a los pacientes. Existen, sin embargo, otras muchas hormonas polipeptídicas importantes, cuyos nombres se irán haciendo más familiares a medida que se difunda su uso en medicina, merced a las investigaciones de la ingeniería genética que intenta incrementar su disponibilidad. Entre ellas se cuentan la hormona del crecimiento, cuya deficiencia produce algunas formas de enanismo, y el factor de crecimiento nervioso, que puede contribuir al tratamiento de las lesiones nerviosas y al restablecimiento nervioso tras las intervenciones quirúrgicas.

La ingeniería genética concentra su interés en tres clases de sustancias con aplicaciones médicas probadas o probables, y las hormonas polipeptídicas proporcionan buenos ejemplos de dichas clases. En primer lugar, aquellas sustancias de las que ya se dispone de una fuente de producción, pero que quizá se puedan obtener más baratas o de mejor calidad a partir de microbios (por ejemplo, la insulina). En segundo lugar, las sustancias de reconocido valor médico, pero cuya producción resulta insuficiente para satisfacer la demanda actual (por ejemplo, la hormona del crecimiento). Finalmente, un tercer grupo lo componen aquellas sustancias que puedan resultar muy útiles aunque se necesita poder contar previamente con mayores cantidades que las actualmente disponibles para poder comprobar sus efectos (por ejemplo, el factor de crecimiento nervioso).

Hasta la llegada de la ingeniería genética, toda la insulina que se administraba a los diabéticos se extraía del páncreas del ganado vacuno o porcino. Se calcula que existen unos sesenta millones de diabéticos en el mundo, y más de la mitad viven en países en vías de desarrollo, donde raramente se diagnostica su enfermedad o se trata. Alrededor de una tercera parte de los casi quince millones de diabéticos existentes en el mundo desarrollado recibe, por término medio, dos miligramos diarios de insulina. La insulina que se obtiene de animales cuesta unos setenta y cinco dólares por kilo; uno de los principales fabricantes mundiales de insulina estima que este precio podría reducirse en dos terceras partes si se lograra producir en gran escala a partir de microbios obtenidos por ingeniería genética. (Aunque este espectacular abaratamiento de los costes de producción de la insulina no se reflejaría, sin embargo, en una reducción equivalente del precio que paga el paciente por el medicamento por cuanto otros elementos que no cambian, como, por ejemplo, el embalaje y la distribución, intervienen en el precio final del producto.)

El gran interés acerca de la insulina obtenida por ingeniería genética reside, principalmente, en dos aspectos: primero, la insulina constituye un sondeo de las posibilidades de incorporar los microorganismos producidos por ingeniería genética a la industria farmacéutica, y, segundo, este tipo de insulina es mejor y más segura que la de origen animal. Las moléculas de insulina elaboradas por el ganado vacuno y el porcino son sólo algo diferentes de la humana. La molécula de insulina humana está constituida por cincuenta y un aminoácidos: la insulina porcina difiere en un aminoácido, mientras que la de vacuno, se diferencia en tres. En la

práctica, estas pequeñas variaciones comportan que algunos pacientes sufren eventualmente reacciones alérgicas frente a estas hormonas animales. La insulina producida por los microorganismos es exactamente igual que la humana. Llevará tiempo descubrir si hay, en realidad, alguna diferencia, aunque, en teoría, debe ser beneficiosa para algunos diabéticos. La insulina humana quizá pueda prevenir o reducir algunos de los efectos a largo plazo de la diabetes, entre ellos la degeneración de la retina, que termina en ceguera, y la disfunción renal. La producción de insulina humana por ingeniería genética se explica más detalladamente en el capítulo II.

En el caso de la hormona del crecimiento, el principal problema estriba en la carencia de ella. Una considerable proporción de niños que no crecen con normalidad deben esta anomalía de su desarrollo a que su hipófisis no produce la suficiente hormona del crecimiento. Si la carencia se diagnostica con suficiente antelación, se puede administrar a tales niños hormona del crecimiento procedente de cadáveres. El tratamiento supone una inyección semanal de 7 mg de hormona durante varios años, mientras que la hipófisis de un cadáver sólo proporciona 4 mg.

En 1985 se inició la comercialización de una hormona del crecimiento producida por bacterias modificadas según las técnicas de ingeniería genética en más de un centenar de pacientes en los EE.UU., y en la actualidad se administra a decenas de miles de niños de todo el mundo. Y, por otro lado, se están investigando sus posibles efectos curativos en la osteoporosis y otras enfermedades de la vejez, así como en el tratamiento de quemaduras, heridas y fracturas, con resultados muy esperanzadores.

El tercer grupo de hormonas polipeptídicas comprende sustancias menos familiares pero igualmente vitales: somatostatina, calcitonina, colecistocinina, bombesina, vasopresina, hormona paratiroidea, factor de crecimiento nervioso, hormona adrenocorticotrópica y eritropoyetina. De algunas se conocen bien sus efectos, por lo cual existe una clara necesidad médica de mejores suministros para tratar las enfermedes correspondientes. Otras, en cambio, son más enigmáticas y únicamente cuando se pueda disponer de ellas en cantidades grandes, en forma pura, se descubrirá su verdadero papel así como sus posibles aplicaciones médicas. Tanto los médicos como los científicos esperan de la ingeniería genética dichos materiales.

En algunos casos se ha logrado ya un considerable progreso. Así por ejemplo, la somatostatina, hormona que se encuentra en el páncreas, el cerebro y en otras partes, fue la primera molécula humana que se obtuvo a partir de bacterias modificadas según las técnicas de la ingeniería genética por un equipo de investigadores de California durante el año 1977.

En el momento actual, estas hormonas se obtienen de cuatro fuentes: animales (en cuyo caso pueden no ser idénticas a las hormonas humanas); órganos humanos, sangre y orina; puramente por procesos de transformación química, o bien por cultivos celulares de laboratorio (cultivo de tejidos). Cada método presenta sus inconvenientes, entre ellos el coste, la limitación de aportes o la pureza. La ingeniería genética, que tiene sus propios problemas, es probable que resulte mejor que cualquier otra técnica con miras a producir cantidades importantes de, al menos, algunos de estos materiales. He ahí, indicadas brevemente, algunas de sus aplicaciones médicas, actuales y posibles.

Las anomalías óseas afectan a gran número de personas, más del tres por ciento de la población de más de cuarenta años en la Europa Occidental, según ciertas estimaciones. Uno de los principales factores para la conservación de la salud de los huesos es el mantenimiento de la debida concentración de calcio en el organismo. Por ser la calcitonina una de las varias hormonas cuya función consiste en mantener el correcto equilibrio de calcio, en determinados tipos de enfermedades óseas puede ser beneficioso un aporte extra de ella. La calcitonina está constituida por una cadena de 32 aminoácidos y se puede sintetizar químicamente; es, en realidad, el mayor polipéptido de uso farmacéutico fabricado de este modo. Cabría sustituir este método de elaboración química por un proceso de producción biotecnológica, en que intervendría la ingeniería genética, si con él se obtuviese un producto más puro o más barato. La hormona paratiroidea puede también desempeñar un papel en el tratamiento de las dolencias óseas, sola o en combinación con la calcitonina. Estas dos hormonas, junto con otras, las secreta el tiroides.

Por el contrario, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH)

—polipéptido ligeramente mayor, constituido por 39 aminoácidos— no se sintetiza químicamente. La secreta la hipófisis y es una de las hormonas más importantes, ya que controla la acción de otras muchas. Se obtiene de animales y puede utilizarse para tratar inflamaciones.

Tanto la colecistocinina como la bombesina reducen el apetito. Aunque la solución ideal para la mayor parte de las personas obesas sea comer menos sin ayuda de medicamentos, ambas hormonas encontrarían con toda seguridad y rápidamente su mercado si se produjeran comercialmente.

La eritropoyetina controla el desarrollo de las células hemáticas. En la actualidad se obtiene mediante procedimientos biotecnológicos, y se administra a los pacientes que sufren de anemia a consecuencia de un fallo renal.

En un grado más especulativo existe alguna prueba de que un polipéptido muy pequeño (de sólo siete aminoácidos de largo), denominado MSH/ACTH 4-10, influye en la concentración y la memoria. Si éste fuera el caso y no presentase efectos secundarios graves, tendría gran interés.

Endorfinas: analgésicos naturales

«Entre los remedios que plugo a Dios Todopoderoso dar a la humanidad para aliviar sus sufrimientos, ninguno tan universal y eficaz como el opio.» Thomas Sydenham, que escribía esto en 1680, podía haber añadido que pocas drogas eran a la vez tan peligrosas. La morfina, el principal ingrediente activo del opio, y la heroína, su próximo pariente, son dos de los analgésicos más potentes que se conocen. ¿Por qué estas sustancias obtenidas del fruto de la adormidera producen efectos tan profundos en el cuerpo humano? La clave del enigma empezó a revelarse en 1975, cuando John Hughes, Hans Kosterlitz y sus colaboradores británicos descubrieron que dos oscuras sustancias químicas del cerebro del cerdo tienen muy parecido efecto al de los opiáceos e iniciaron una rápida investigación que puede conducir a la producción de analgésicos potentes y seguros. Trabajos posteriores llevados a cabo en Gran Bretaña, en los Estados Unidos y en otras partes ponen de manifiesto que hay cierto número de otras hormonas de efectos parecidos al de la morfina y drogas similares. Primero se descubrieron las encefalinas, formadas únicamente por cinco aminoácidos encadenados, y luego aparecieron las endorfinas, moléculas algo mayores, que reciben su nombre del hecho de ser endógenas (se producen en el interior) y ser semejantes a la morfina. Una de las endorfinas, la dinorfina, es mil doscientas veces más potente que la morfina.

Es indudable que las encefalinas y las endorfinas tienen otros efectos en el organismo además de su carácter analgésico. Su interacción es compleja y sutil, aunque aumentan rápidamente los conocimientos sobre ellas. En teoría, estas sustancias deberían ser más seguras que las drogas manufacturadas químicamente o las extraídas de los vegetales, lo cual ha movido a muchos científicos a investigarlas más a fondo. Por lo menos una firma comercial, la Endorphin Inc., de Seattle, tiene ya sus ojos puestos en dichas sustancias y se ha puesto en relación con investigadores del University College de Londres para someter a clonación el gen de la endorfina pancreática. Las endorfinas secretadas por la pituitaria han acaparado buena parte del interés suscitado, aunque, según parece, estas endorfinas, cuando se inyectan, no alcanzan fácilmente el cerebro en su forma activa, mientras que las endorfinas producidas por las celulas pancreáticas alcanzan el cerebro tras su administración.

De todas maneras, debe destacarse que este tipo de investigaciones se encuentran todavía en sus primeras fases y cualquier producto de uso médico se encuentra probablemente a años vista. En particular, es muy posible que las encefalinas y las endorfinas generen adicción, como la morfina. Este problema, así como la necesidad de dirigir la droga, debe ser enfocado químicamente, mediante modificaciones moleculares.

Hormonas esteroides, temprano éxito de la biotecnología

Mientras que la ingeniería genética es la fuerza directriz para la consecución de hormonas polipeptídicas, la biotecnología ya ha hecho una contribución importante a la producción de las relativamente distintas hormonas esteroideas. Veinte años antes del naci-

miento de la ingeniería genética, una levadura trajo el alivio a millones de personas a través de la producción de cortisona.

El lugar de nacimiento oficial de la cortisona fue insólitamente augusto para un compuesto químico: el salón de baile del Waldorf Astoria Hotel, de Nueva York. En abril de 1949, la Clínica Mayo anunció el descubrimiento de un nuevo medicamento para la artritis, que se designó con el humilde nombre de compuesto E. Muy pronto empezó a traficarse con la vitamina E para curar la artritis, ¡a pesar de que su parecido más notable con el compuesto E era la presencia de la E mayúscula en su nombre! En julio, el compuesto E fue rebautizado como cortisona, y con ello empezaba su ilustre carrera.

La demanda fue inmensa pero las disponibilidades eran muy limitadas y los químicos trabajaban para poder fabricar cortisona en grandes cantidades. Lo lograron, aunque el proceso resultó complicado, ya que consistía en treinta y siete reacciones químicas distintas y, en consecuencia, el precio de la cortisona fue elevado: 200 dólares por gramo. La solución vino, como ocurre a menudo, de un microorganismo. En 1952 se descubrió que el moho del pan, *Rhizopus arrhizus,* puede convertir otro esteroide, la progesterona, en un compuesto a partir del cual se puede obtener la cortisona con mucha mayor facilidad; el precio de la cortisona bajó hasta 6 dólares por gramo y, en 1980, nuevas mejoras han permitido reducir este precio hasta los 0,46 dólares por gramo. Ello ha sido posible no sólo porque los microbios han permitido eliminar muchos pasos en la síntesis de la cortisona (actualmente sólo se precisan once), sino porque se han podido eliminar las altas presiones y temperaturas así como los caros disolventes químicos que exigía el método químico de producción.

El caso de la cortisona ilustra con claridad el hecho de que la biotecnología y los métodos de la industria química no deben considerarse como vías excluyentes. Probablemente, la combinación de procesos químicos y biológicos desempeñará un papel aún más importante en la industria en el próximo decenio.

Las materias primas para la obtención de la cortisona y otras hormonas esteroideas son los esteroles, grupo de compuestos que habitualmente se obtienen de las semillas de soja y del barbasco, planta mexicana. Como parte del proceso de obtención del estradiol y la testosterona (usados ambos en los anticonceptivos) y otros esteroides de importancia médica, se utilizan dos, o más, microorganismos para realizar modificaciones precisas en el proceso químico, lo cual puede llevar a obtener los productos finales.

Utilizados con precaución, los esteroides pueden ayudar a aliviar las inflamaciones, las afecciones cutáneas y las alergias, así como otras muchas enfermedades. Sin los microbios, no se dispondría de muchas de estas sustancias o serían demasiado caras.

Proteínas plasmáticas

La sangre humana parece un líquido homogéneo, pero, en realidad, está compuesta por docenas de componentes. Entre ellos se encuentran diferentes tipos de células, tales como los glóbulos rojos, que transportan el oxígeno, y diversas clases de células que forman parte del sistema inmunitario del cuerpo. De la misma manera que las células en la sangre hay también distintos tipos de proteínas. Algunas, como los factores VIII y IX (véanse las páginas 112 y 139), contribuyen a la coagulacion de la sangre, aunque la proteína sanguínea más común es la albúmina. En 1979 se utilizaron unos noventa mil kilogramos de albúmina en la práctica quirúrgica y en el tratamiento de quemaduras y golpes, cifra que se espera se doble con creces antes de 1990. En la actualidad, la albúmina humana se obtiene por fraccionamiento de la sangre donada, aunque en 1981 se sometió el gen a clonación y se espera que no pase mucho tiempo sin que puedan producirse grandes cantidades de ella mediante la utilización de microorganismos tratados mediante ingeniería genética. Con planes de producción por microbios de hasta diez toneladas anuales, la albúmina puede convertirse en el primer producto fabricado en gran escala mediante ingeniería genética.

Terapia de sustitución enzimática

Toda persona es portadora de casi una docena de genes defectuosos, y, sin embargo, se despreocupa de tan alarmante hecho a menos que ella misma, o alguien próximo a ella, se cuente entre

los millones de personas que padecen una enfermedad genética. Aproximadamente una de cada diez personas tiene una dolencia hereditaria, o sufrirá de ella en el futuro, y se sabe que unas dos mil ochocientas anomalías específicas están causadas por defectos (mutaciones) de un único gen de la persona afectada. Algunas enfermedades causadas por un solo gen son bastante comunes, así, por ejemplo, la fibrosis quística se da en uno de cada 2.500 recién nacidos, en el Reino Unido, mientras que, en conjunto, las enfermedades que pueden atribuirse a defectos de ciertos genes constituyen aproximadamente el cinco por ciento de los ingresos en los hospitales infantiles.

El que la mayoría de las personas no experimente efectos perniciosos de los diversos genes defectuosos que posee se debe a que toda persona tiene dos copias de casi todos sus genes, una procedente de su padre y otra, de su madre. Los genes de los cromosomas sexuales de los varones constituyen la única excepción a la regla. Los varones tienen un cromosoma X y uno Y, el primero procedente de su madre y el segundo, de su padre, de modo que cada célula posee una sola copia de los genes de dichos cromosomas. En muchos casos un gen bueno* es suficiente para borrar todos los síntomas de la enfermedad. Si el gen potencialmente pernicioso es «recesivo», entonces su equivalente normal desempeña toda la tarea asignada a ambos. En este caso sólo si se heredan de los progenitores dos copias defectuosas del mismo gen recesivo aparecerá la enfermedad. Puesto que los genes defectuosos de una persona están diseminados entre miles de genes distintos, resulta improbable que dicha persona y su pareja sean portadores precisamente de los mismos genes defectuosos, y, en la medida en que no se dé esta desafortunada combinación, su hijo estará libre de enfermedades genéticas recesivas.

Si el gen defectuoso es «dominante», puede producir la enfermedad incluso en el caso de que su equivalente sea normal. Obviamente, sólo un hijo de un padre afectado puede en este caso tenerla y aun entonces sólo la mitad de sus hijos presentarán la anomalía. La corea de Huntington, grave enfermedad del sistema nervioso, que únicamente se manifiesta en la edad adulta, constituye un ejemplo de enfermedad genética dominante.

Hay que considerar, finalmente, el caso de las enfermedades genéticas ligadas al sexo, en que el gen defectuoso se encuentra en el cromosoma X. Dado que los varones solamente tienen una copia de los genes de este cromosoma, ningún otro gen puede contrarrestar la plena expresión del gen defectuoso. Tanto la distrofia muscular de Duchenne como la hemofilia están ligadas al sexo.

Gran parte de la investigación se ha centrado en las enfermedades genéticas del metabolismo, en que un gen defectuoso origina que falte determinado enzima o actúe de manera ineficaz, alterando así el delicado equilibrio químico del organismo. A veces la biotecnología puede aportar los enzimas que faltan.

La hemofilia, una de las enfermedades hereditarias más importantes, consiste en un trastorno de la sangre que le impide coagularse correcta y rápidamente. La reina Victoria de Inglaterra fue la portadora más famosa del gen defectuoso responsable de esta enfermedad y la transmitió a las familias reales rusa, española y prusiana. Los pequeños cortes y contusiones, de poca importancia para la mayoría de las personas, pueden resultar fatales para los hemofílicos, ya que carecen de las sustancias que desencadenan las reacciones químicas de coagulación de las moléculas sanguíneas para impedir que se siga perdiendo sangre. Muchos hemofílicos se tratan en la actualidad con proteínas, el factor VIII y el IX, extraídas de la sangre donada; ambas sustancias se han ob-

* Hay que proceder con cuidado al usar los términos «bueno» y «malo» en relación con los genes. Existe, en realidad, considerable variación entre la estructura precisa de los genes humanos. «Insólito» puede no equivaler a «malo». Por otro lado, todos los genes actúan en determinado ambiente e incluso los genes que causan ciertas enfermedades pueden presentar otros efectos beneficiosos. El ejemplo clásico lo constituye la relación existente entre la anemia falciforme y la malaria. Sólo los individuos con dos copias del gen para la anemia falciforme —que producen proteínas sanguíneas defectuosas— están aquejados de esta grave enfermedad. Por su parte, los individuos que poseen un gen para la anemia falciforme y una copia de su gen normal no la sufren y además son capaces de resistir la infección por parásitos de la malaria. La clara ventaja que supone la posesión de un gen «defectuoso» concuerda, y se explica, con el hecho de que este gen es común en las poblaciones procedentes de zonas donde la malaria es una enfermedad endémica. Sin embargo, la emigración hacia regiones libres de malaria borra la «ventaja» que suponía este «defecto» aunque permanecen sus efectos negativos.

tenido también a partir de microbios modificados por ingeniería genética.

La enfermedad de Gaucher es una de las diez enfermedades hereditarias conocidas que afectan a las reservas de lípidos, la mayoría de las cuales dañan gravemente el sistema nervioso. Los niños aquejados de esta enfermedad carecen del enzima que normalmente rompe la molécula de uno de los muchos lípidos corporales: el glucocerebrósido; entonces, esta sustancia se acumula en el hígado, el bazo y los huesos, y produce inflamaciones, lesiones nerviosas y, a veces, la muerte antes de alcanzar los dos años de edad. En cambio, si pudiera administrarse el enzima adecuado a las células repletas de aquella sustancia, sería posible aliviar los síntomas de la enfermedad de Gaucher, lo cual es exactamente lo que se persigue. Uno de los científicos participantes en esta investigación, Roscoe Brady, de los National Institutes of Health de Estados Unidos, ha dicho: «Creo que nuestra tecnología está a punto de darnos la solución que necesitamos, pero hasta que no podamos producir los enzimas adecuados en cantidades mucho mayores y dirigirlos hacia sitios específicos, la terapia de sustitución se habrá de considerar como experimental.» Los biotecnólogos han ideado ya cierto número de técnicas para producir materiales biológicos y enzimas en cantidad y para dirigirlos.

En la actualidad, el enzima necesario para combatir la enfermedad de Gaucher se purifica a partir de orina humana o de placenta, donde se encuentra en cantidades muy pequeñas. Si ya resulta caro y requiere demasiado tiempo recoger la suficiente cantidad de enzima incluso para realizar pruebas clínicas, sería prohibitivo para un programa en gran escala para tratar a muchas personas. La ingeniería genética podría resolver el problema haciendo que las bacterias lo produjesen.

El problema bioquímico específico, que de ordinario consiste en la carencia de un enzima o de otra proteína, se ha encontrado en unas doscientas enfermedades metabólicas conocidas. Todavía no es posible decir cuántas de ellas podrán tratarse por medio de una terapia de sustitucion enzimática, pero dentro de diez años habrán aumentado estas perspectivas. Pero es virtualmente cierto que sin la ayuda de la biotecnología, los médicos podrían albergar pocas esperanzas de obtener enzimas puros en grandes cantidades

y a precios razonables, dos requisitos indispensables de cualquier terapia de este tipo. Cabe esperar que tan pronto se demuestre la efectividad de determinada terapia de sustitución enzimática, los biotecnólogos serán capaces de satisfacer la demanda del enzima.

Terapia de sustitución génica: en la raíz misma de la enfermedad hereditaria

Hasta los ambiciosos planes de la terapia de sustitución enzimática quedan empequeñecidos al lado de la sustitución génica, una de las nociones más radicales jamás planteadas en medicina. Comoquiera que las enfermedades metabólicas hereditarias son producidas por la falta o mal funcionamiento de algún gen, se alcanzaría la cura definitiva proporcionando al paciente los genes correctos que le permitirían producir los enzimas u otras proteínas necesarias, eliminando así la causa de la enfermedad.

A pesar de la gran publicidad que se ha dado a la terapia de sustitución génica, queda todavía lejos el día en que será algo corriente. Aunque los ingenieros de genética pueden hilvanar con facilidad y de la manera que deseen los genes de las bacterias, la terapia de sustitución génica —como la medicina en general— tiene que ver con algo mucho más complejo y sutil que células; tiene que ver con la salud de toda una persona, compuesta por miles de millones de células semiindependientes.

Todas las células del cuerpo tiene los mismos genes, aunque las distintas células utilizan de diferente manera la enorme variedad de información genética de que disponen. Por ejemplo, las células de la piel tienen genes para la insulina, pero no los usan; corren con esta tarea las células especializadas del páncreas. No se trata simplemente de que las células de los distintos órganos realicen funciones especializadas, sino que la función de determinada célula puede cambiar también con el tiempo. Muy notablemente, los numerosos cambios que ocurren durante la pubertad son consecuencia de la activación o desactivación del arsenal de genes de las células de diversos órganos.

El mayor obstáculo práctico que se ha de salvar en el camino hacia una terapia de sustitución génica eficaz estriba en que, por el

momento, no se dispone de métodos seguros para introducir genes en las células humanas de manera que queden sometidos a los sistemas corporales normales de control. Es decir, si el gen permanece inactivado nada se consigue. De la misma manera, si se vuelve demasiado activo —instruyendo a la célula a producir excesivas cantidades de determinada proteína— se puede originar un trastorno equivalente al de la enfemedad que se pretende curar.

El primer intento de sustitución génica en el hombre lo realizó, en 1980, Martin Cline, de la Universidad de Los Ángeles, que se desplazó a Italia e Israel para tratar de curar a dos pacientes afectados de talasemia, grave enfermedad casi siempre mortal. Existen varios tipos diferentes de talasemia, causados todos por defectos del gen que codifica la globina, parte fundamental de la molécula de hemoglobina, la sustancia que da color rojo a la sangre y transporta el oxígeno por todo el organismo.

Los glóbulos rojos, ricos en hemoglobina, se forman en las células de la medula ósea. Por este motivo, Cline y sus colaboradores tomaron algunas células de la medula ósea de sus pacientes e intentaron introducir en ellas un gen normal para la globina, mediante vectores análogos a los plásmidos empleados en la ingeniería genética de microbios, con la esperanza de que podría desempeñar la función que no realizan los genes defectuosos, y ello permitiría a los pacientes disponer de hemoglobina normal. Como el gen de la globina era el primer gen humano que se había sometido a clonación, no presentaba dificultad obtener genes normales para inserirlos en las células de la medula ósea, y, una vez modificadas, introducir de nuevo dichas células en los huesos de los pacientes.

Estas operaciones fracasaron, posiblemente porque se introdujeron los genes en un lugar equivocado de los cromosomas de los pacientes y no produjeron ARNm, el primer paso en la síntesis de una proteína. Hubo que esperar hasta 1990 para que esta operación de inserción de un gen «sano» en células de un paciente con un defecto génico tuviera éxito. La operación se realizó en Ashanti De Silva, una niña estadounidense que padecía una enfermedad inmunitaria muy poco frecuente, causada por una deficiencia en el enzima adenosín-desaminasa (ADA).

A Ashanti se le extrajeron leucocitos de su sangre, los cuales

fueron infectados con retrovirus en el laboratorio con el fin de introducirles el gen «sano» que produce la ADA. Luego se cultivaron in vitro con el fin de que se multiplicaran, y finalmente se inyectaron de nuevo en la sangre de Ashanti. La niña mejoró considerablemente de su enfermedad, pero la mejoría fue transitoria porque los leucocitos sólo viven unos meses. Para solventar este problema, se ideó un método para extraer las células de la medula ósea que fabrican los leucocitos, tratarlas con retrovirus y devolverlas al torrente sanguíneo con la esperanza de que al menos algunas de ellas se establezcan de nuevo en la medula y fabriquen leucocitos sanos. De este modo se curaría definitivamente la enfermedad, pues estas células de la medula duran toda la vida. En 1993 se han llevado a cabo ya algunos procedimientos terapéuticos de este tipo en Ashanti y otros niños, que si tienen éxito marcarán un hito en la historia de la terapia génica.

Si la terapia génica resulta viable, su mayor aplicación será seguramente el tratamiento de aquellas enfermedades en las que el gen normal sólo se tenga que introducir en su órgano, es decir, en aquellos casos en que el gen sólo se expresa en las células de determinado tejido. Dos de estas enfermedades son la fenilcetonuria y la anemia falciforme.

La fenilcetonuria afecta a unos doce mil niños blancos, los cuales, si no se tratan, presentan graves retrasos mentales. Produce esta enfermedad el defecto de un gen que normalmente elabora un enzima de las células hepáticas. La fenilcetonuria puede diagnosticarse rápidamente después del nacimiento y es posible eliminar sus funestos efectos si el niño sigue una dieta especial y muy desagradable durante los primeros años de su vida.

La anemia falciforme está muy extendida, especialmente entre la población negra del África tropical y de los Estados Unidos de América, así como también en zonas del Oriente Medio y de la región mediterránea. La enfermedad recibe su nombre de la forma característica que toman los glóbulos rojos de la sangre de las personas afectadas. Al igual que la talasemia, la anemia falciforme se debe a un defecto de los genes de la globina. También aquí la esperanza se cifra en que se puedan modificar las células de la medula ósea por ingeniería genética y facultar así al paciente para

producir globinas normales, lo que eliminaría el dolor y la muerte prematura asociados con la enfermedad.

Huelga decirlo, antes de iniciar la terapia de cualquier enfermedad genética, ya sea por sustitución génica o por sustitución enzimática, el médico debe tener un diagnóstico preciso del defecto genético del paciente. Aquí, sin duda, las sondas de ADN (véase la página 124) tendrán un papel fundamental. Desaparecerán la mayor parte de las incertidumbres actuales en el diagnóstico con el uso de sondas especialmente proyectadas para distinguir entre genes defectuosos y sus variantes normales.

Dentro de diez años se verá más claramente si la terapia de sustitución génica tendrá un papel importante en la medicina del siglo veintiuno. Hasta entonces habrá que seguir basándose en los tratamientos usuales y en el consejo genético, mediante el cual se advierte a las parejas cuyos miembros son portadores de los mismos genes defectuosos de las probabilidades de engendrar hijos que también las tengan.

La sustitución génica es un tema ideal para la elucubración teórica. ¿Es posible que los seres humanos puedan ser objeto de modificaciones específicas? La respuesta es casi con seguridad negativa en sus aspectos más importantes, y, ciertamente, se debe estar agradecido por ello. Mientras que es bastante imaginable que ciertos defectos genéticos puedan corregirse, es extremadamente improbable que lleguen a forjarse cambios más importantes en la genética de los individuos. Tal vez será posible corregir algunos errores de la naturaleza, aunque es casi descabellado pensar que se puedan mejorar sus mejores logros, ejemplificados por la mayoría de las personas no afectadas por ninguna enfermedad hereditaria grave. La modificación de los «genes de la inteligencia» es pura fantasía. No hay ninguna prueba seria de que esto que llamamos inteligencia (que se mide con las pruebas de coeficiente intelectual, CI) dependa primariamente de factores hereditarios. Incluso la parte de la inteligencia determinada genéticamente es, casi con certeza, el resultado de complejas interacciones entre multitud de genes distintos. La tarea de desentrañar tan intrincado sistema es terriblemente difícil y las perspectivas de poder modificarlo en determinado sentido son infinitamente pequeñas.

EL AZOTE DE LOS RICOS

Mientras que la mayoría de las enfermedades antes consideradas afectan a todos los grupos de edad, si bien a menudo a los jóvenes de un modo particular, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares se ceban principalmente en los adultos y las personas de edad. Las enfermedades cardiovasculares, y en especial los ataques cardiacos —originados por obstrucción de los vasos sanguíneos por los que se aporta la sangre al corazón— y las embolias (obstrucción de los vasos que irrigan el cerebro), suponen más de la mitad del número total de defunciones en los países desarrollados, como los Estados Unidos o el Reino Unido. La National Science Foundation estima que una de cada cuatro personas vivas en los Estados Unidos sufrirá de alguna forma de cáncer y que, de acuerdo con la tendencia actual, una de cada seis morirá a causa de dicha dolencia.

Queda claro que no hay necesidad de destacar la magnitud del problema, y la lucha contra estos dos grupos de enfermedades, en particular el cáncer, constituye uno de los principales objetivos de muchísimos biotecnólogos. La dificultad es grande, entre otros motivos, porque se está muy lejos de conocer las causas de tales enfermedades, aunque existen algunos signos esperanzadores de que algunos nuevos métodos de diagnóstico y de tratamiento, basados en la biotecnología, serán decisivos dentro de no mucho tiempo.

El cáncer y las raíces de la malignidad

Entre el tercio relativamente rico de la población mundial, ninguna otra enfermedad suscita tanto temor como el cáncer. La insidiosa y cruel naturaleza de la mayor parte de los cánceres justifica plenamente esta actitud. La inquietud ha llevado a muchos a intentar «encontrar la curación del cáncer», y merece destacarse aquí la norteamericana National Cancer Act de 1971, que dedicaba a la lucha contra el cáncer más de seiscientos millones de dólares. Cabe preguntarse, pues, ¿por qué ante tan amplia y coordinada lucha, en que participan muchísimos de los científicos y médicos mundialmente más destacados, continúa siendo el cáncer una enfermedad sumamente intratable?

En realidad, la investigación sobre el cáncer, ha alcanzado más éxito que el que a menudo se reconoce. Así, por ejemplo, un diagnóstico precoz y una mejora de la terapia han despejado considerablemente el panorama para el cáncer de laringe y algunas leucemias. Sin embargo, las tasas de mortalidad del cáncer de pulmón —el tipo de cáncer más común entre los varones británicos y estadounidenses—, así como el cáncer de mama —el más frecuente entre las mujeres—, siguen siendo obstinadamente altas.

El lento progreso ha llevado a preguntar en voz alta por qué no se dispone de un remedio para el cáncer de modo similar a como ocurrió con la poliomielitis. Esto conduce al meollo del problema: el cáncer no es una enfermedad única. La poliomielitis es causada por un virus identificable, lo cual posibilita la producción de vacunas muy eficaces para combatirla. Las probabilidades de conseguir una vacuna similar son virtualmente nulas. El cáncer tiene muchas causas y toma formas diversas.

En el cuerpo humano sano, cada célula y cada órgano forma parte de un sistema regulado con una coordinación precisa. El proceso del crecimiento, desde la célula huevo única hasta el organismo adulto, depende del crecimiento celular y de la división de funciones, de acuerdo con un complicado modelo. Cuando un órgano u otro grupo de células especializadas ha alcanzado su tamaño se generan unas señales —de una manera cuyos detalles no se conocen— que detienen el crecimiento de las células. Desde aquel momento, las células nuevas se generan a un ritmo atenuado, suficiente sólo para reponer las bajas por muerte. En las células cancerosas se descontrola la regulación ordinaria; las células continúan creciendo, dividiéndose, e invaden zonas de tejido sano con resultados funestos.

El problema obvio con que se enfrentan los investigadores del cáncer consiste en determinar cómo pueden escapar las células cancerosas a los rígidos mecanismos corporales de control ordinarios. Se han descubierto muchos detalles acerca de los procesos moleculares que se desencadenan en dichas células, y se sabe mucho más acerca de los agentes responsables de la transformación de las células.

Así, unas quinientas sustancias químicas son carcinógenas (que producen cáncer) para los animales, de las cuales algunas do-

cenas se hallan involucradas en cánceres humanos. Obviamente, la imposibilidad ética de las pruebas químicas restringe mucho la búsqueda de carcinógenos humanos, ya que cabría que produjeran cáncer al hombre. Así, por ejemplo, la mayoría de las pruebas acerca de sustancias carcinógenas para el hombre se desprenden de la incidencia de ciertos tipos de cáncer en personas cuyo trabajo las expone a determinados productos químicos. En este sentido, se ha establecido una estrecha relación entre el cloruro de vinilo, compuesto químico utilizado en la fabricación del plástico PVC, y el cáncer de hígado, al tiempo que la relación entre la costumbre de fumar cigarrillos y el cáncer de pulmón es incontrovertible, para mencionar sólo dos de los ejemplos más conocidos. Materias tan diversas como el benceno, el asbesto y el cromo también están involucradas en algún tipo de cáncer humano. Surge un profundo debate acerca de la importancia de estos agentes carcinógenos ambientales entre algunos expertos, que opinan que se les pueden achacar el 85 % de todos los cánceres. En cualquier caso, parece muy difícil que estos carcinógenos «industriales» puedan explicar la aparición de otros numerosos tipos de cáncer, ya que muchas personas no entran en contacto con ellos.

Es una tarea descorazonadora intentar coordinar el cúmulo de advertencias que tienden a relacionar el tipo o estilo de vida con el cáncer. Sin lugar a dudas, determinadas dietas particulares aparecen relacionadas con algunos tipos de cáncer: por ejemplo, la ausencia de fibras en la dieta con el cáncer de colon o la elevada incidencia de cáncer de estómago consecuente a las dietas japonesas tradicionales. Aunque es cuestionable, sin embargo, que tales hechos puedan constituir la base para una «dieta que prevenga el cáncer». En su 5-Year Outlook on Science and Technology, la estadounidense National Science Foundation señala que «la evitación de un tipo de riesgo parece llevar necesariamente a engendrar otro».

Algunas radiaciones, entre ellas las producidas por las reacciones nucleares o la radiación ultravioleta del espectro solar, producen, claramente, cáncer. La luz solar es la principal causa de cáncer de piel, aunque afortunadamente es una de las formas más benignas de dicha enfermedad, y existe gran controversia acerca de la cantidad de radiación que se puede tolerar sin peligro. Todo

el mundo opina que grandes dosis de radiación producen cáncer, aunque las opiniones difieren por lo que respecta a la peligrosidad de cantidades mucho menores con las que se enfrenta, con mucha mayor probabilidad, la generalidad de la población. Mientras algunos expertos opinan que la aparición de cáncer es directamente proporcional a la cantidad de radiación y que incluso pequeñas dosis pueden causar determinados tipos de cáncer, otros sostienen la existencia de un umbral por debajo del cual no existe peligro. Puede llevar varios años que unos u otros recojan el suficente número de pruebas para inclinar la balanza a su favor. En el ínterin, la prudencia aconsejaría pensar que todos los índices de radiación son potencialmente peligrosos.

Los últimos principales sospechosos de producir cáncer son los virus. Virtualmente, todas las universidades importantes se dedican al estudio de virus que producen tumores en animales. El resultado conjunto de sus investigaciones ha puesto de manifiesto intrincados detalles acerca de cómo los virus alteran el equilibrio celular. En la actualidad se conocen docenas de virus específicos que transforman células normales en cancerosas en el ratón, conejo, pollo, monos y otros animales. Sin embargo, sólo cuatro formas de cáncer humano se han relacionado estrechamente con virus: un tipo de cáncer de hígado con virus de la hepatitis, dos formas raras de cáncer hemático y un cáncer de nariz y garganta que se da principalmente en África. Hace pocos años parecía que los virus podían constituir la clave del problema del cáncer en general y que, incluso, existiese quizás un «virus de cáncer humano». La idea perdió predicamento, aunque con el reciente auge de la investigación sobre los oncogenes ha reaparecido bajo distinto ropaje.

Los oncogenes son genes derivados de otros genes normales involucrados en el crecimiento y la diferenciación celular. Al parecer, muchos oncogenes codifican proteínas que estimulan el crecimiento celular, mientras que otros codifican proteínas que las células utilizan para reconocer los factores de crecimiento y responder a ellos. En la actualidad, las investigaciones biotecnologicas para combatir el cáncer se centran por un lado en la fabricación de sustancias que interfieran en alguna de las etapas de conversión de la proteína codificada por el oncogén en proteína

funcional, o que inutilicen dicha proteína; y por otro, en la obtención de asociaciones de fármacos anticelulares con anticuerpos monoclonales específicos que permitan a dichos fármacos actuar sólo contra las células cancerosas (véase la pág. 100).

Interferón: esperanzas ciertas e infundadas, hechos y fantasías

De pocos fármacos se ha hecho tanta publicidad como del interferón. Relatos de preciosos viales de interferón atravesando el mundo para ofrecer esperanza a pacientes de cáncer, han hecho soñar a muchos que el interferón podría curar esta enfermedad.

Frente a la desaforada campaña de los medios de comunicación —a veces apoyada en citas temerarias de científicos y médicos— acecha la tentación de reaccionar por el otro extremo y negar al interferón cualquier posible papel como una genuina ayuda para la terapia de cáncer. El hecho escueto es que nadie ha probado de manera inequívoca que el interferón pueda curar alguna forma de cáncer. Hasta hace muy poco no se dispuso en el mundo entero de la suficiente cantidad de interferón para realizar pruebas adecuadas acerca de su eficacia. Esta situación, sin embargo, está cambiando rápidamente. Por ingeniería genética se produce cada vez más interferón y numerosas instituciones de primera fila están investigando sobre sus efectos; así, por ejemplo, la American Cancer Society dedica cinco millones de dólares al proyecto, mientras que la Britains's Imperial Cancer Research Fund tiene un presupuesto para ello de un millón de libras esterlinas.

En el momento presente van apareciendo signos esperanzadores: parece que el interferón alivia a los enfermos de cáncer de piel, hueso, mama y sangre. En los próximos años brotará una rápida sucesión de publicaciones científicas que presentarán los resultados de las pruebas efectuadas con varios tipos de interferón en pacientes aquejados de diversos tipos de cáncer. Sólo cuando se disponga de estos resultados se estará en condiciones de decir qué papel podrá desempeñar, si es que le cabe alguno, el interferón en la terapéutica futura. Por el momento, la mejor conjetura es que

tendrá su papel, no como una panacea milagrosa, sino como un arma más del arsenal médico.

Una nueva línea de investigación se refiere a la idea de producción de interferones híbridos. La docena larga de interferones conocidos puede agruparse en tres clases: alfa, beta y gamma, de acuerdo con el tipo de células que los produce en mayor abundancia. Los interferones alfa y beta son químicamente semejantes y proceden de los leucocitos (los glóbulos blancos de la sangre), así como de los fibroblastos (células del tejido conectivo del músculo o de la piel). El interferón gamma es algo distinto y se obtiene a partir de células del sistema inmunitario. Escindiendo cuidadosamente los genes que codifican los interferones, será posible inducir las bacterias a producir interferones híbridos, compuestos, verbigracia, por la primera mitad de una forma unida a la segunda mitad de otra. Entonces se podrá comprobar si este interferón híbrido es más eficaz que cualquiera de sus formas naturales

Una de las muchas sorpresas que ha deparado la investigación relacionada con el interferón se refiere al papel de las moléculas de glúcidos (azúcares) unidas a muchos de los interferones producidos por las células humanas. Al igual que muchas proteínas, los interferones no son simples cadenas de aminoácidos, sino que presentan glúcidos unidos a la cadena en determinadas posiciones. Este tipo de proteínas se denominan glucoproteínas. Es difícil que las bacterias puedan elaborarlas, porque no «sabrían» dónde añadir los glúcidos, y los especialistas en ingeniería genética tienen un largo camino que recorrer para encontrar el modo de indicárselo. Por fortuna, parece que los interferones que carecen de glúcidos y pueden ser producidos por microorganismos convenientemente instruidos, actúan exactamente en el mismo sentido que sus glucoproteínas homólogas naturales.

¿Más allá del interferón?

Frente al número de falsas esperanzas surgidas para «curar el cáncer» no habría que apresurarse a proclamar nuevas soluciones para uno de los más insolubles problemas de la humanidad. Demasiados materiales «muy prometedores» se han perdido por el camino.

Los relativamente escasos conocimientos sobre el modo de acción de los interferones resultan notables si se comparan con lo que se sabe acerca de multitud de otros materiales del sistema inmunitario. Cuatro de dichas sustancias, a las que se ha concedido particular atención durante el período de mediados del decenio de 1980, son la interleucina-2, el factor de necrosis tumoral, la linfotoxina y el factor activador de los macrófagos. Los genes para las tres primeras se han sometido a clonación recientemente y se dispone de cantidades crecientes de ellos con las que poder realizar las largas y descorazonadoras pruebas necesarias para comprobar su eficacia. Varias pruebas dadas a conocer a principios de 1985 indican que continúan siendo de potencial importancia para la terapia del cáncer, aunque es improbable que ninguna de ellas se pueda establecer firmemente durante los próximos cinco años.

La magnitud de la tarea de ayudar las defensas naturales del organismo frente al cáncer puede juzgarse si se tiene en cuenta que la interleucina-2 y la linfotoxina son sólo dos del centenar aproximado de «linfocinas» producidas por los leucocitos o glóbulos blancos. El norteamericano National Cancer Institute estima que varias de estas sustancias pueden tener grandes posibilidades en el tratamiento del cáncer.

Sería fútil —y temerario— intentar decir cuál, en el caso de que alguna lo fuera, de estas sustancias será realmente útil. Pero se puede estar seguro de que si alguna se muestra apropiada para la terapia del cáncer, bien pronto será algo familiar.

Los anticuerpos monoclonales y su utilidad en la lucha contra el cáncer

Antes de poder atacar las células cancerosas mediante anticuerpos, conviene saber qué las distingue de las normales. Sólo entonces se podrán preparar anticuerpos que se dirijan hacia las células malignas al tiempo que ignoran todas las demás. Es un trabajo formidable, en el cual ya se han hecho algunos procesos importantes.

La raíz del problema es fácil de entender: las células cancerosas son también células humanas, si bien han adoptado una forma anómala. No ha de sorprender, pues, que las superficies de las células cancerosas (donde se encuentran los antígenos) sean muy similares a las de las células normales. Pero, por fortuna, el trastorno interno que han experimentado dichas células se manifiesta en sutiles cambios de sus antígenos de superficie, y esto ha posibilitado que en los últimos años se hayan podido producir anticuerpos monoclonales que pueden reconocer aquellos antígenos característicos, aunque todavía no se ha encontrado un antígeno que sea completamente específico de las células cancerosas, es decir, que esté presente únicamente en ellas.

Ahora ya es posible preparar anticuerpos monoclonales que puedan reconocer antígenos característicos (aunque no por completo específicos) de diversos tipos de cáncer, entre ellos los tres más mortíferos: de mama, de pulmón y de intestino. Dicha lista, que incluye asimismo las leucemias y los cánceres de piel y de páncreas, se ampliará rápidamente. El inmenso trabajo relacionado con ello se deduce del hecho de que los investigadores del norteamericano Cancer Institute deben examinar más de quince mil tipos distintos de anticuerpos monoclonales para encontrar uno que sea específico para una forma de cáncer de pulmón que anualmente afecta a unos treinta y dos mil estadounidenses.

En la actualidad, los anticuerpos monoclonales se utilizan casi enteramente para el diagnóstico y control de la efectividad de las distintas formas usuales de terapia del cáncer (lámina 11). El éxito del tratamiento puede medirse por la disminución del número de marcadores del cáncer, detectados por los anticuerpos apropiados, presentes en una muestra de sangre del enfermo. Las aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos están todavía en sus comienzos. Hasta el momento, las noticias más esperanzadoras proceden de Ronald Levy y sus colaboradores de la Stanford University School of Medicine. Sus comunicaciones preliminares sugieren que determinado tipo de cáncer, el de las células que producen los anticuerpos (linfoma de las células B), se puede tratar con anticuerpos monoclonales.

Los anticuerpos monoclonales pueden, por sí mismos, poner en marcha el propio sistema inmunitario del paciente para que empiece a luchar contra el cáncer, aunque un perfeccionamiento de esta idea es lo que despierta mayor interés entre los especialistas de cáncer. Se trata de utilizar los anticuerpos como «misiles dirigidos» para llevar directamente una «ojiva» tóxica hacia las células cancerosas. La mayoría de los medicamentos se distribuyen por casi todos los lugares del cuerpo del enfermo aunque en casi todos los casos sólo se necesitan realmente en unos pocos sitios específicos, en aquellos en que se desarrolla el cáncer. La mayor parte de los medicamentos más potentes producen efectos secundarios desagradables, ya que afectan tanto a las células enfermas como a las normales, y esto resulta especialmente notable en el caso de los fármacos utilizados para combatir el cáncer. Sería, por tanto, deseable poder administrarlos a dosis más pequeñas y asegurarse de que alcancen aquellos lugares donde más bien pueden hacer. Esto es precisamente lo que posibilitan los anticuerpos monoclonales. Parece enteramente factible que los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos presentes en las células cancerosas se puedan asociar con medicamentos contra el cáncer y que los lleven directamente hacia el cáncer. La belleza de esta técnica se pone de relieve, además, por el hecho de que no sería necesario que los médicos supieran dónde se encuentra cada cáncer, ya que serían los anticuerpos monoclonales los encargados de encontrarlo.

Caird Edwards y Philip Thorpe, del London's Chester Beatty Research Institute, han denominado método del reciario a este tipo de terapia del cáncer. Los reciarios de la antigua Roma eran gladiadores armados únicamente con red y tridente. Los anticuerpos monoclonales portadores de medicamentos anticancerosos trabajarían de manera semejante a aquellos luchadores: los anticuerpos atraparían las células cancerosas y, una vez inmovilizadas, los medicamentos les asestarían el golpe de gracia.

La posibilidad de dirigir con mayor precisión los medicamentos ha abierto las puertas a toda una nueva gama de agentes anticancerosos. Mientras los fármacos anticancerosos no se puedan dirigir directamente contra el cáncer, sólo se podrán utilizar sustancias relativamente no tóxicas. (El término «relativamente» es significativo aquí: cualquier medicina anticancerosa eficaz causa

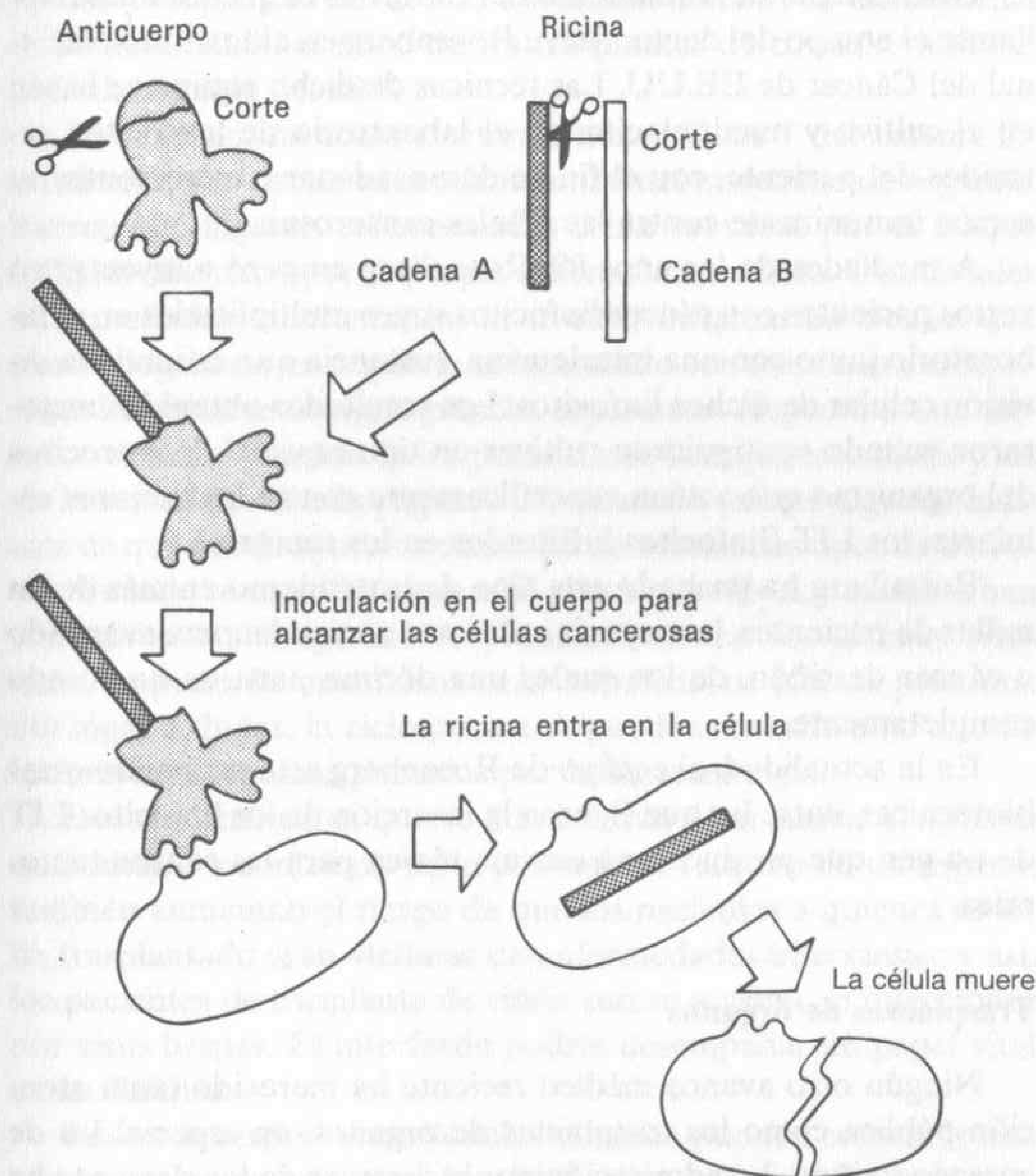
considerables trastornos en otras partes del cuerpo.) Si un fármaco unido a un anticuerpo monoclonal atacara únicamente las células cancerosas, entonces se podrían usar los venenos celulares más potentes. Una de tales sustancias es la ricina, proteína de origen vegetal. La ricina es tan potente que basta con una molécula para matar una célula.* Experimentos realizados en Dallas (Texas) muestran que la ricina asociada a anticuerpos mata las células cancerosas de la medula ósea sin dañar las células sanas.

De hecho, la ricina puede transformarse en menos peligrosa. Al igual que otras muchas toxinas, como las de la difteria o el cólera, la ricina está constituida por dos cadenas de aminoácidos unidas por un puente único. Una cadena, la B, permite a la molécula de ricina atravesar la membrana que envuelve la célula, mientras que la otra, la cadena A, es la parte que provoca la muerte. Utilizando sólo la cadena A tóxica asociada a un anticuerpo, se reduce el riesgo de que la ricina pueda penetrar en el interior de células sanas (fig. 4-8).

Obviamente, la eficacia de la ricina y otros venenos similares depende de su entrada en las células que ha de atacar. Si se suprime la cadena B, ¿cómo podrá realizar su destructivo cometido la cadena A? No se sabe la respuesta completa, aunque la parte que se conoce constituye un exquisito ejemplo de ardid de la naturaleza y de cómo a veces se equivoca. Cuando un anticuerpo ordinario se acopla a un antígeno en la superficie de una célula, el anticuerpo no produce directamente un daño a la célula, pero actúa como señal para que otras partes del sistema inmunitario destruyan la célula. La «célula marcada» tiene una manera de eludir este destino: engullir el anticuerpo para que no pueda seguir alertando al sistema inmunitario. Esto supone una solución evidente cuando el anticuerpo en cuestión es normal, pero si el anticuerpo es portador de una toxina del tipo de la ricina, la célula —al igual que los troyanos al admitir el caballo— labra su propia destrucción.

* La fama, o mejor dicho la notoriedad, de la ricina surgió por vez primera a propósito del extraño asesinato de Georgi Markov, locutor búlgaro que trabajaba en Londres. Después de su muerte se encontró una cápsula metálica pequeña en una de sus piernas. Probablemente la cápsula contenía una gota de ricina y fue disparada con una escopeta de aire comprimido camuflada como un paraguas.

En la actualidad ya se han realizado experiencias con este tipo de biotécnica terapéutica en ratones, empleando como veneno celular un potente fármaco anticancerígeno, la doxorubicina. Se ha



obtenido en ellas un porcentaje de curaciones muy elevado, y está previsto que en un futuro inmediato se inicien los ensayos clínicos en pacientes humanos.

Selección de leucocitos contra el cáncer

Otro sistema de tratamiento del cáncer es el que está desarrollando el equipo del doctor Steve Rosenberg en el Instituto Nacional del Cáncer de EE.UU. Las técnicas de dicho equipo se basan en el cultivo y manipulación en el laboratorio de leucocitos extraídos del paciente, con el fin de desencadenar o incrementar su acción inmunizante contra las células cancerosas.

A mediados de los años 80, Rosenberg empezó a inyectar en varios pacientes con cáncer linfocitos suyos multiplicados en el laboratorio junto con una interleucina, sustancia que estimula la división celular de dichos linfocitos. Los resultados obtenidos mejoraron cuando consiguieron cultivar un tipo especial de leucocitos del organismo que actúan específicamente contra los tumores celulares, los LIT (linfocitos infiltrados en los tumores).

Rosenberg ha probado este tipo de tratamiento en más de un millar de pacientes, la mayoría enfermos con melanoma avanzado o cáncer de riñón, de los cuales una décima parte se ha curado completamente.

En la actualidad, el equipo de Rosenberg está probando otras biotécnicas, entre las que figuran la inserción de los linfocitos LIT de un gen que produce una enzima tóxica para las células tumorales.

Trasplantes de órganos

Ningún otro avance médico reciente ha merecido tanta atención pública como los trasplantes de órganos, en especial los de corazón y riñón. La admiración por la destreza de los cirujanos ha ensombrecido, en parte, la contribución fundamental de los inmunólogos. Se ha de convencer, de alguna manera, el cuerpo del paciente a aceptar el objeto extraño —el órgano trasplantado— y a no asaltarlo con su sistema inmunitario. En los últimos años se ha preparado un conjunto de fármacos que inhiben la acción del sistema inmunitario, de ellos el mejor es la ciclosporina A, compuesto elaborado por el hongo *Tolypocladium inflatum*. Este organismo, descubierto por vez primera en una muestra de suelo de Noruega, ha revolucionado el trasplante de órganos. Sin ciclosporina A, sólo el 35 % de los pacientes viven al año de haber recibido un trasplante de hígado, mientras que si reciben el medicamento la cifra casi se dobla. De modo similar, la ciclosporina A ha aumentado el éxito de los trasplantes de corazón desde el 50 % hasta más del 80 %.

La ciclosporina actúa afectando a las células T del sistema inmunitario, y su uso se extiende más allá del trasplante de órganos. Parece que algunas enfermedades están causadas por el ataque infligido al cuerpo por su propio sistema inmunitario. Una de tales enfermedades autoinmunes, la uveítis, inflamación ocular que puede degenerar en ceguera, se ha tratado con éxito con ciclosporina. También se abrigan grandes esperanzas respecto a este fármaco en la destrucción de los parásitos de la esquistosomiasis y los de la malaria (véase la página 115) e incluso existen algunos indicios de que puede ayudar a controlar determinados tipos de diabetes. Cuando se considera que sólo pocos científicos y médicos han contado con ciclosporina A y únicamente en los últimos siete años,. se pone de manifiesto cuán beneficiosos efectos presenta. Sin lugar a dudas, la ciclosporina A puede convertirse en uno de los mayores regalos aportados por la biotecnología.

Los medicamentos que se administran para inhibir el sistema inmunitario y contribuir así a prevenir el rechazo de un órgano, también aumentan el riesgo de que los pacientes a quienes se les ha trasplantado sean víctimas de enfermedades infecciosas; y así, los pacientes de trasplante de riñón sufren a veces de infecciones por virus herpes. El interferón podría desempeñar un papel vital en su defensa.

Los anticuerpos monoclonales también pueden constituir una ayuda suplementaria para las debilitadas defensas del paciente, aunque, y esto es más importante, se pueden utilizar los anticuerpos monoclonales para seleccionar el mejor órgano posible, es decir, aquel lo más parecido posible para su trasplante a determinado paciente. Asimismo, los anticuerpos monoclonales revolucionarán la tipificación de tejidos, nombre con que se conoce la

ciencia de emparejar órganos, pues podrán identificar los antígenos de los potenciales donadores de órganos y permitirán a los médicos seleccionar aquellos con mayor semejanza a los órganos del paciente. Con este método se va directo a la raíz del problema del rechazo, ya que los antígenos extraños inducen el sistema inmunitario del paciente a actuar contra el nuevo órgano. Asegurando que en los trasplantes haya tan pocos antígenos extraños como sea posible, se reduciría la necesidad de medicación, con lo cual se mantendría en mejor forma el sistema inmunitario del paciente.

Las sondas de ADN tienen también una importante función en la tipificación de tejidos. Los antígenos que caracterizan los órganos y las células de un individuo están codificados en un conjunto de genes denominado MHC (de *major histocompatibility complex*). Comparando la facultad de las sondas de ADN de asociarse con ADN procedente tanto del órgano del donante como de las propias células del paciente, sería posible seleccionar aquellos órganos lo más parecidos posible a los del paciente.

Enfermedades cardiovasculares

Como todo el mundo sabe, la sangre que mana de una herida se solidifica muy pronto en un coágulo que impide posteriores pérdidas de ella. Sin lugar a dudas, este proceso es vital, ya que si no existiera la facultad de coagulación o estuviese disminuida, como sucede en los hemofílicos, cualquier pequeño rasguño podría resultar mortal. De la misma manera, sin embargo, es esencial que en el interior de las venas o de las arterias no se produzcan coágulos que lleguen a obstaculizar el aporte de sangre oxigenada hacia los tejidos. Si se forman, los efectos pueden ser desastrosos: un ataque cardiaco, si la obstrucción se produce en las proximidades del corazón, y una embolia, si cerca del cerebro.

Muchas sustancias participan en el control corporal del proceso de coagulación. Algunas la favorecen y otras la retardan. Este sistema de frenos y equilibrios constituye un maravilloso ejemplo de regulación biológica, aunque a veces, por distintos motivos, los vasos sanguíneos se obstruyen y dos productos de la biotecnología pueden ayudar a desbloquearlos y minimizar los daños.

A partir de 1930 se iniciaron intensos estudios acerca del enzima estreptocinasa, producido por las bacterias *Streptococcus*; dicho enzima se ha utilizado desde 1970 para disolver los coágulos en extremidades y pulmón, y, en 1982, la norteamericana Food and Drug Administration autorizó su uso para el tratamiento de las cardiopatías. Por prometedora que sea la estreptocinasa, presenta una desventaja, común, por otra parte, a la mayoría de los enzimas bacterianos que se introducen en el cuerpo del paciente, ya que provoca una respuesta inmune que disminuye sus efectos. Por este motivo, actualmente se concentra la atención en un enzima de parecidas propiedades pero elaborado por células humanas: la urocinasa.

La mayor parte de la urocinasa que se produce procede del Japón, donde constituye la séptima sustancia medicamentosa más vendida, con un volumen de ventas de ciento cincuenta millones de dólares anuales. En la actualidad, la urocinasa se extrae tanto de la orina como a partir de células renales cultivadas en el laboratorio. Ambos procesos son muy caros, y este hecho, unido al creciente interés por su utilización en el tratamiento de los coágulos internos en el Japón y Europa, ha movido a los especialistas en ingeniería genética a intentar someter a clonación el gen interesante e introducirlo en bacterias. Al menos dos grupos se han atribuido el éxito, aunque el posterior progreso de un sistema comercial de fermentación para producir el enzima está envuelto en un halo de misterio. En teoría, por lo menos, no hay ninguna razón para suponer que no pueda disponer hasta 1990 de la urocinasa y otros enzimas relacionados con la disolución de los coágulos sanguíneos, obtenidos por procedimientos de ingeniería genética.

Un grupo de compuestos, conocidos con el nombre genérico de plasminógenos activadores hísticos, han suscitado todavía mayor interés durante los últimos cuatro años. Parece que la urocinasa actúa disminuyendo la facultad de coagulación de la sangre en todo el cuerpo, con el consiguiente riesgo de hemorragias internas. Los plasminógenos activadores hísticos, por el contrario, dan la impresión de ser más precisos en su acción, ligando ellos mismos los coágulos sanguíneos y estimulando a otros constituyentes de la sangre a fragmentarlos, sin reducir la facultad general de

coagulación. Algunos de estos compuestos ya se han sometido a clonación y se están empleando en pruebas clínicas.

Una inverosímil alianza entre las luciérnagas y las bacterias empieza a ocupar un lugar en el diagnóstico de las enfermedades cardiacas y las hepáticas. En la estela producida por las naves al surcar el océano, especialmente en aguas tropicales, aparece con frecuencia una extraña y débil luminiscencia, que procede de millones de bacterias luminosas que habitan en el agua. Tanto las bacterias como las luciérnagas producen luz por medio de reacciones químicas en que participan enzimas.

El aumento de la presencia de sustancias grasas, los triglicéridos, ocasiona riesgo de aterosclerosis, el estrechamiento de las arterias producido por el depósito de dichas materias en la cara interna de las paredes del vaso. Aunque existen diversos métodos para medir la cantidad de triglicéridos, se acaba de poner a punto un método basado en la bioluminiscencia, más preciso y rápido, y quizá pueda ser más económico.

Las bacterias luminiscentes desprenden luz cuando el enzima luciferasa cataliza un tipo particular de reacción química, que únicamente se produce en presencia de un compuesto rico en energía, conocido, por las iniciales de su nombre, como NAD(P)H. De modo que se puede determinar la cantidad de NAD(P)H por la luz emitida por una solución que contenga luciferasa procedente de bacterias. Cuando se mezcla sangre que contiene triglicéridos con otro tipo de enzima y NAD(P)H, la concentración de NAD (P)H en la disolución varía de acuerdo con la cantidad de triglicéridos presentes, lo que determina la variación de la cantidad de luz emitida por la solución y proporciona una medida indirecta, aunque precisa, de los triglicéridos presentes en la muestra de sangre. De modo similar, puede utilizarse la luciferasa de luciérnaga para poner de manifiesto la concentración de creatinina-cinasa (que aumenta después de un ataque cardíaco) y otras sustancias.

Se han ideado métodos similares para medir alcohol, determinadas hormonas y ácidos biliares (indicadores de lesiones hepáticas). Por otro lado, este método podría emplearse para analizar más de doscientas sustancias corporales si resultaran ser indicadores significativos de alguna enfermedad.

La prevención, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer y de

las enfermedades del corazón y de los vasos sanguíneos se cuentan, sin lugar a dudas, entre las mayores empresas de la biotecnología actual. Hasta el momento se han realizado avances de importancia, y los progresos esperanzadores efectuados en determinados campos deben mover al optimismo, en la creencia de que en los próximos años se producirán avances importantes del poder del hombre para combatir tales enfermedades, que actualmente son las responsables de más de la mitad de las defunciones en el mundo desarrollado.

Lámina 1. Bacterias en forma de bastoncillo (*Bacillus cerus*) ampliadas 1.250 veces.

Lámina 2. Moléculas filamentosas de ADN exudando de una bacteria alterada. La flecha señala un plásmido.

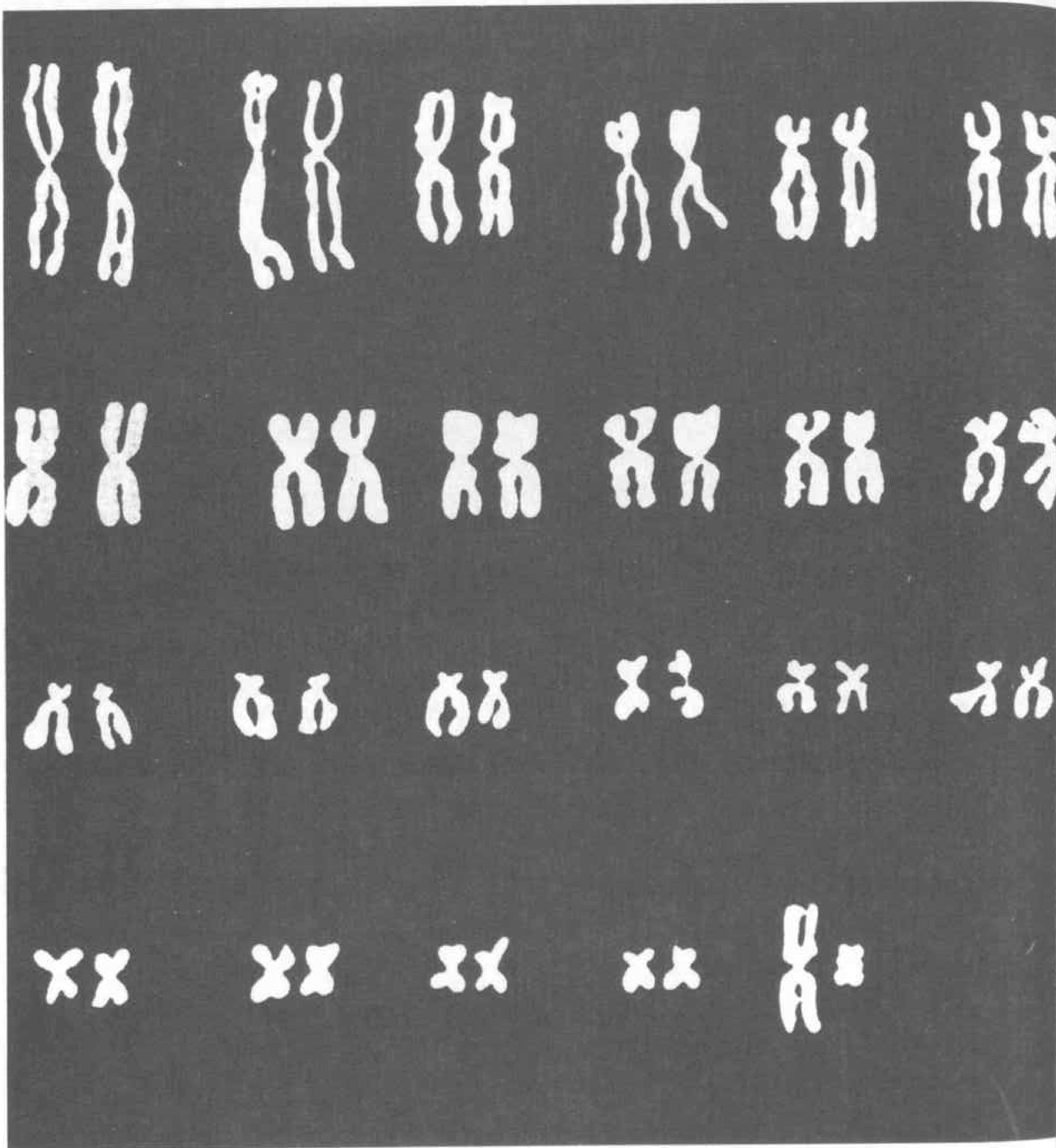


Lámina 3. Cromosomas humanos de sexo masculino. Los hombres poseen 23 pares de cromosomas y en ellos se encuentra toda la información genética codificada en el ADN, necesaria para la vida. Las bacterias presentan un solo comosoma, circular.

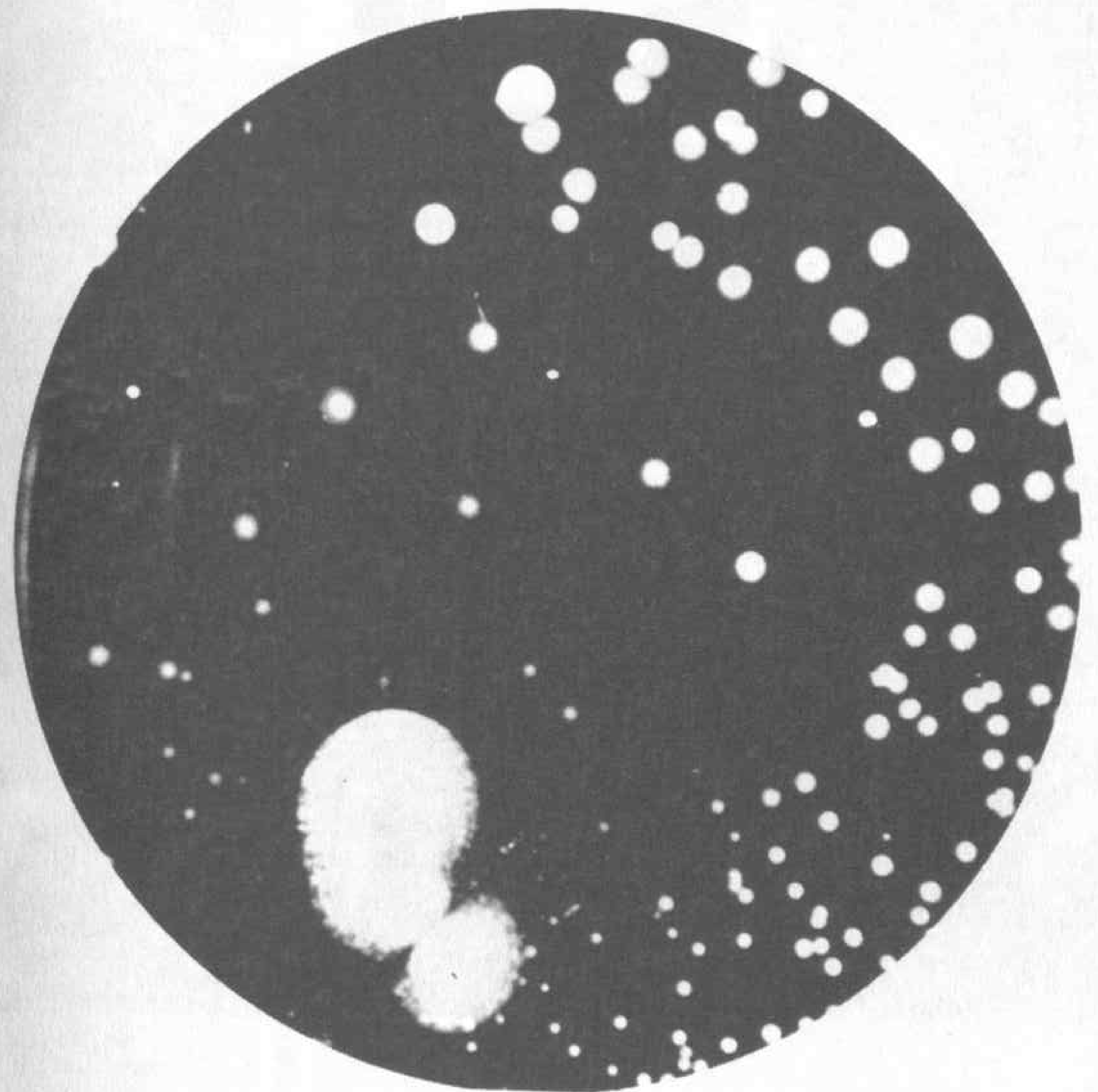


Lámina 4. Efecto del moho *Penicillium* en el crecimiento bacteriano. La placa de vidrio (cápsula de Petri) es uno de los instrumentos indispensables del equipo del microbiólogo. Puede rellenarse con material gelatinoso, en que crecen los microorganismos. En la ilustración, una cápsula de Petri utilizada para repetir la experiencia de Fleming. El *Penicillium* que crece en la parte inferior libera penicilina en el medio que le rodea, la cual impide el crecimiento de las bacterias en los alrededores. Los puntos blancos de la parte superior y de la derecha son colonias de bacterias que crecen al no haberlas afectado la penicilina.

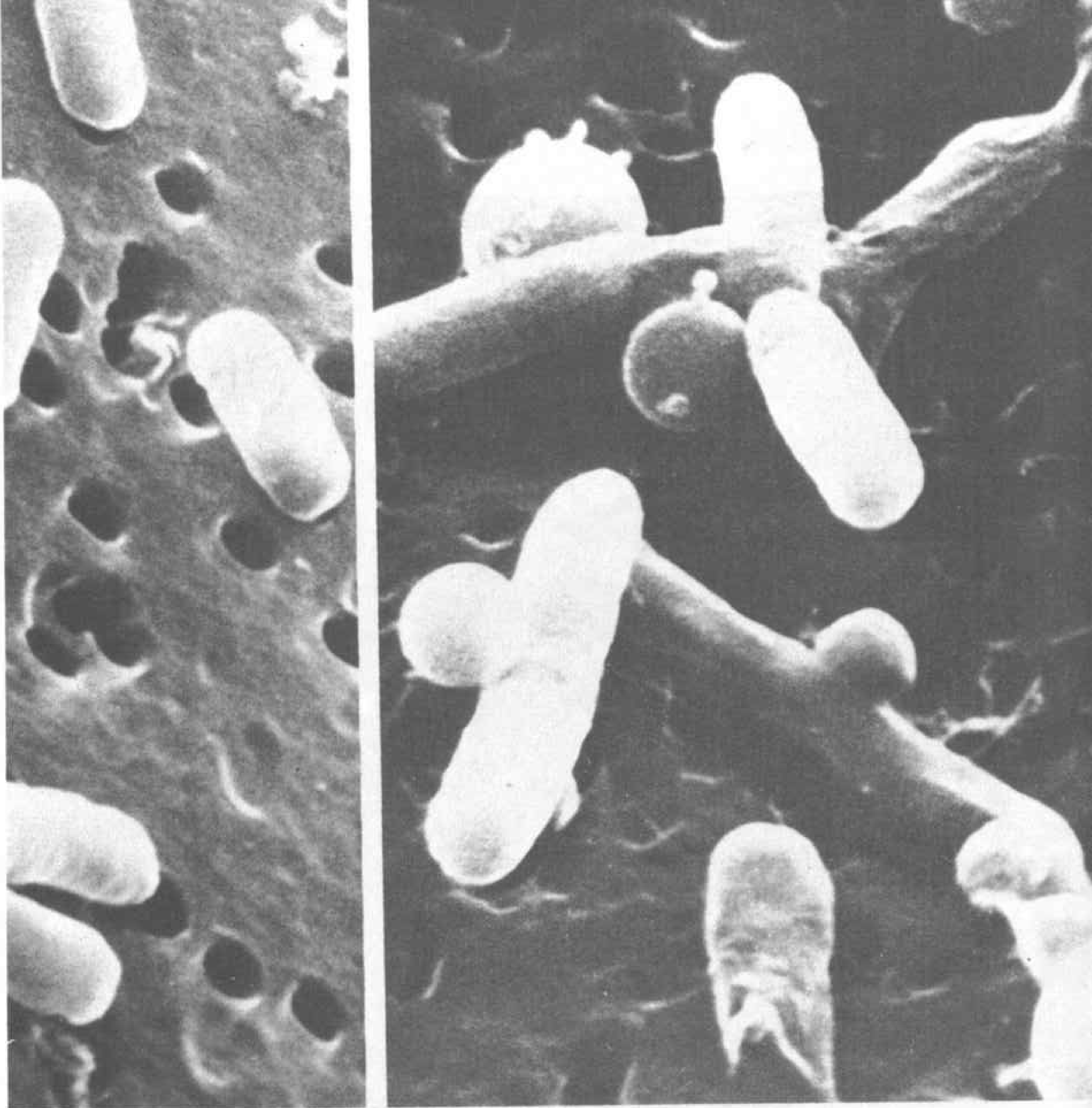


Lámina 5. Acción de la penicilina. La penicilina entorpece la facultad de las bacterias de elaborar correctamente su pared celular. A la izquierda, células normales de *E. coli* y, a la derecha, células de la misma especie tratadas con penicilina. Las células se presentan deformadas e incompletas porque no son capaces de elaborar paredes celulares resistentes. La penicilina tiene escaso o nulo efecto en el hombre porque las membranas de las células humanas están formadas por compuestos químicos distintos.

Lámina 6. La penicilina se produce en grandes depósitos metálicos, de cien mil ▶ o más litros de capacidad. Se dota al moho *Penicillium chrysogenum* de un ambiente ideal y se le proporcionan nutrientes, oxígeno y otras sustancias necesarias, mediante un complicado sistema de conductos y válvulas. Las fermentaciones penicilínicas completas duran unas dos o tres semanas, por lo que es habitual en las factorías farmacéuticas disponer de una docena de tanques o más de fermentación a fin de contar con regularidad de aportes de mezclas ricas en penicilina para su purificación y posterior preparación.

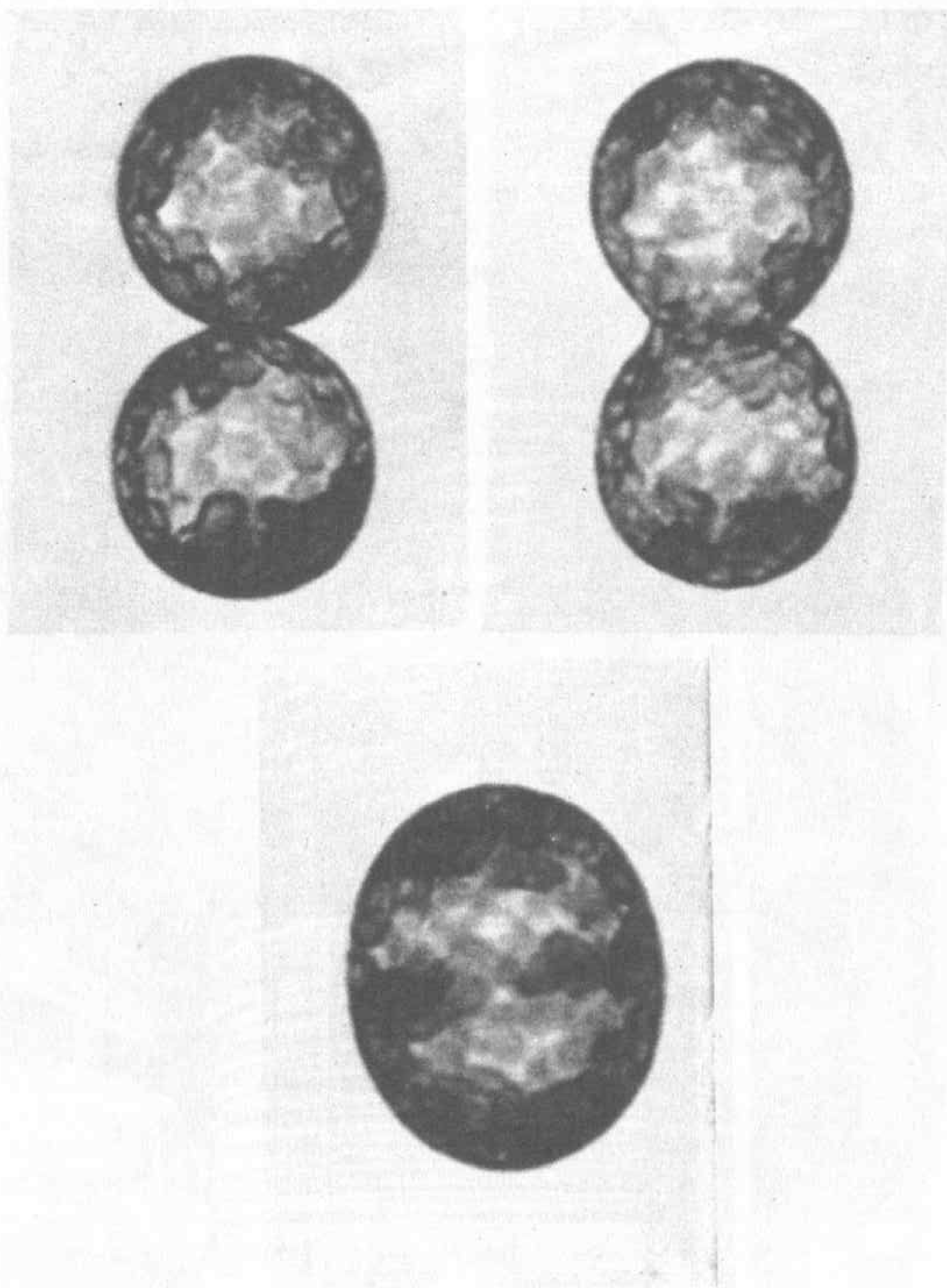


Lámina 7. Dos protoplastos de tabaco (células sin su pared celular) en el transcurso de la fusión para formar una sola célula.

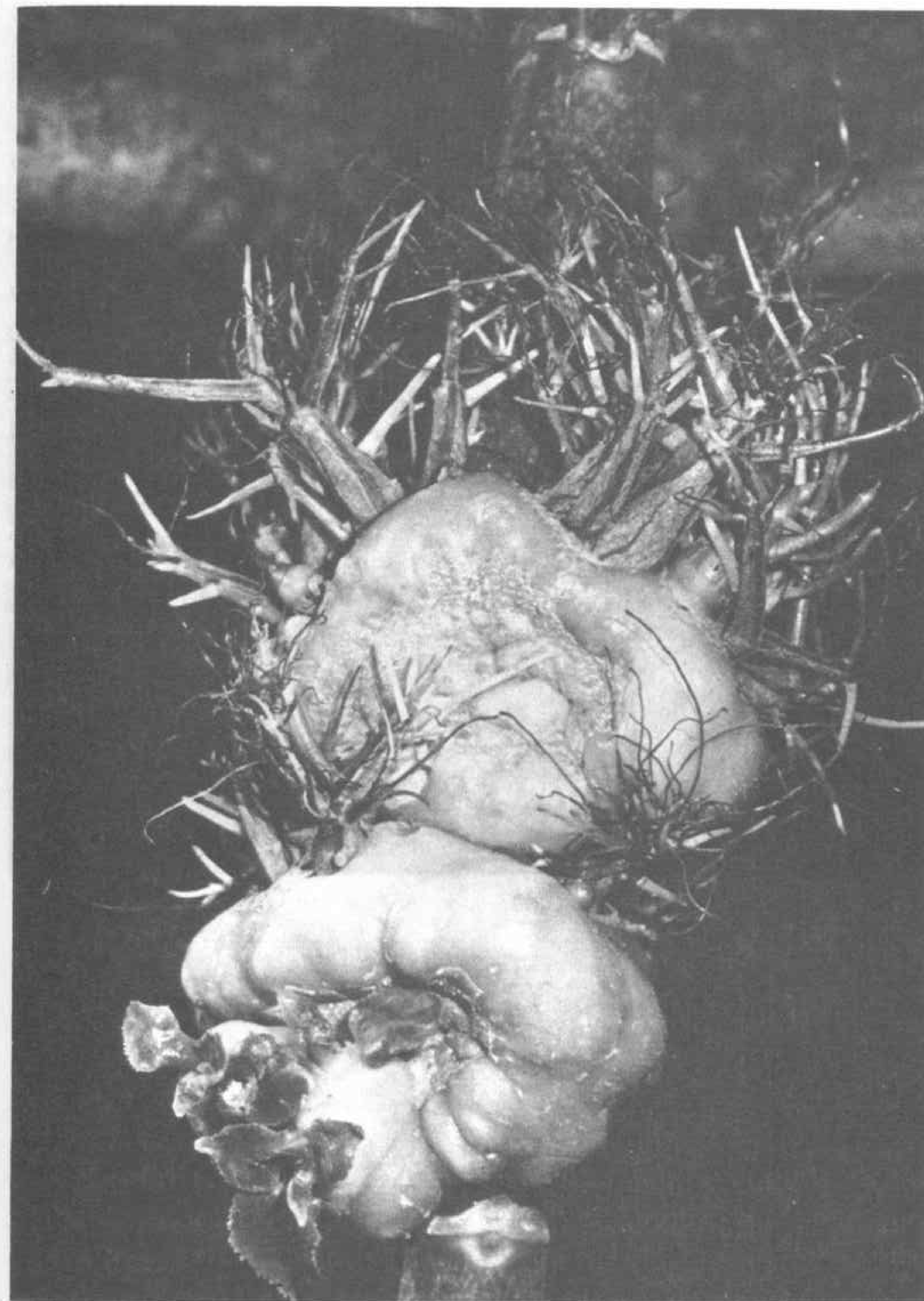


Lámina 8. Agalla de corona, crecimiento de tipo canceroso en vegetales, producidos por la *Agrobacterium tumefaciens*. El plásmido inductor de tumor de esta bacteria se introduce en las células vegetales y origina que éstas crezcan y se dividan de manera incontrolada.

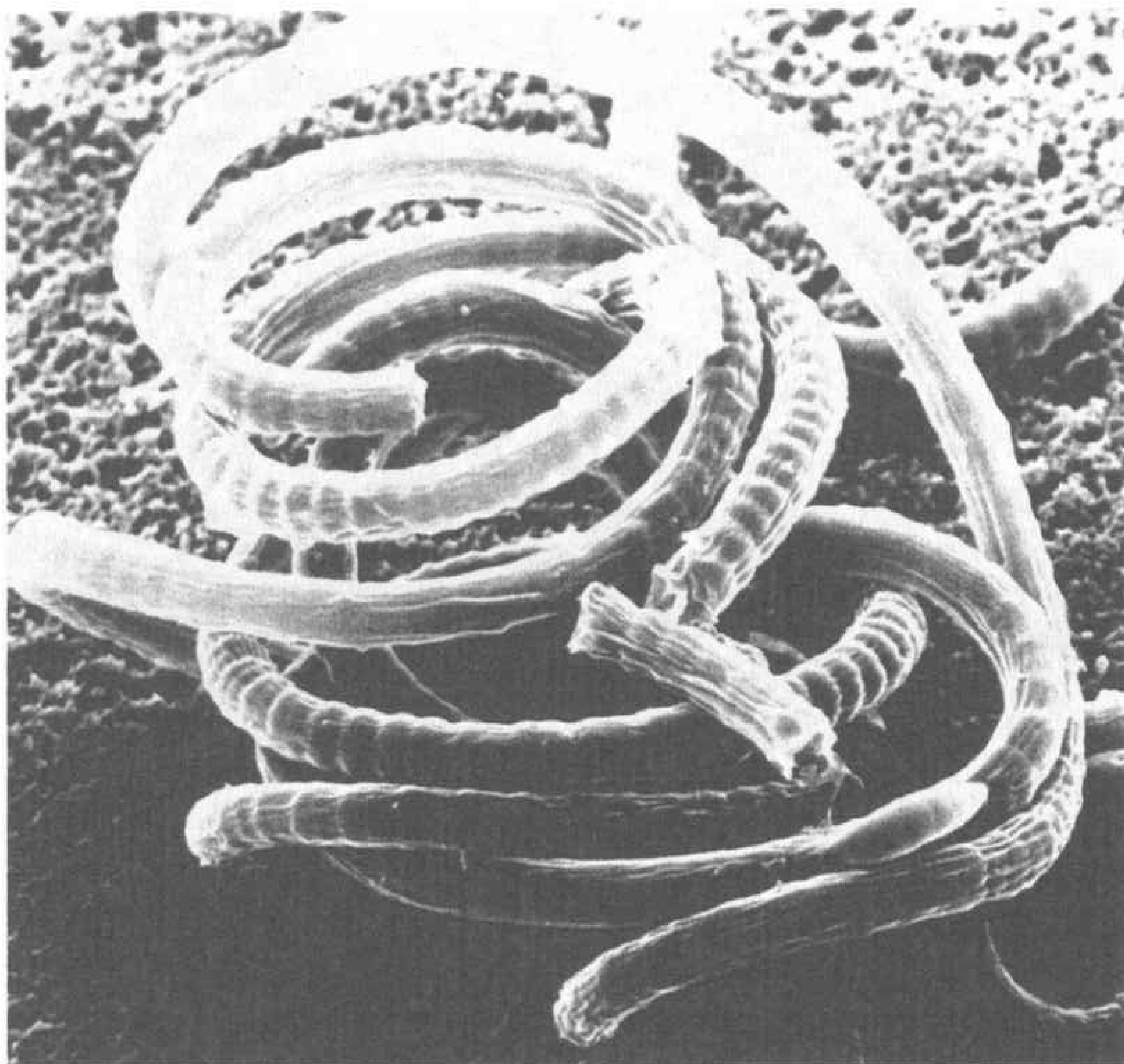


Lámina 9. Filamentos espirales del alga *Spirulina platensis*, fuente rica en proteínas, utilizada durante siglos para la alimentación humana en México y el Chad.

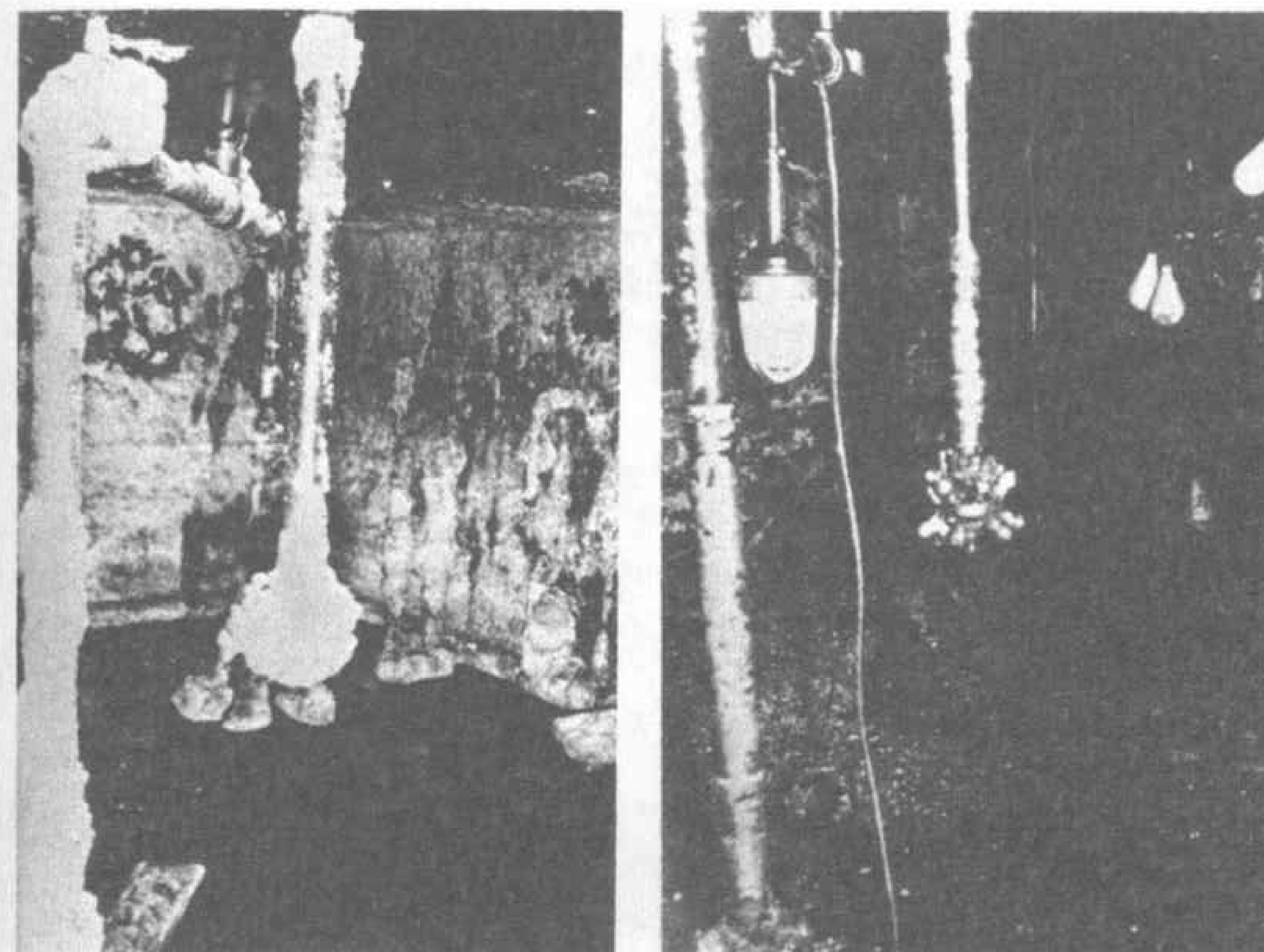


Lámina 10. Grasa acumulada en el interior de un depósito de un barco de la marina de guerra norteamericana (*izquierda*); el mismo tanque después de cuatro meses y medio de uso durante los cuales se añadieron bacterias desengrasantes para detener el proceso (*derecha*).

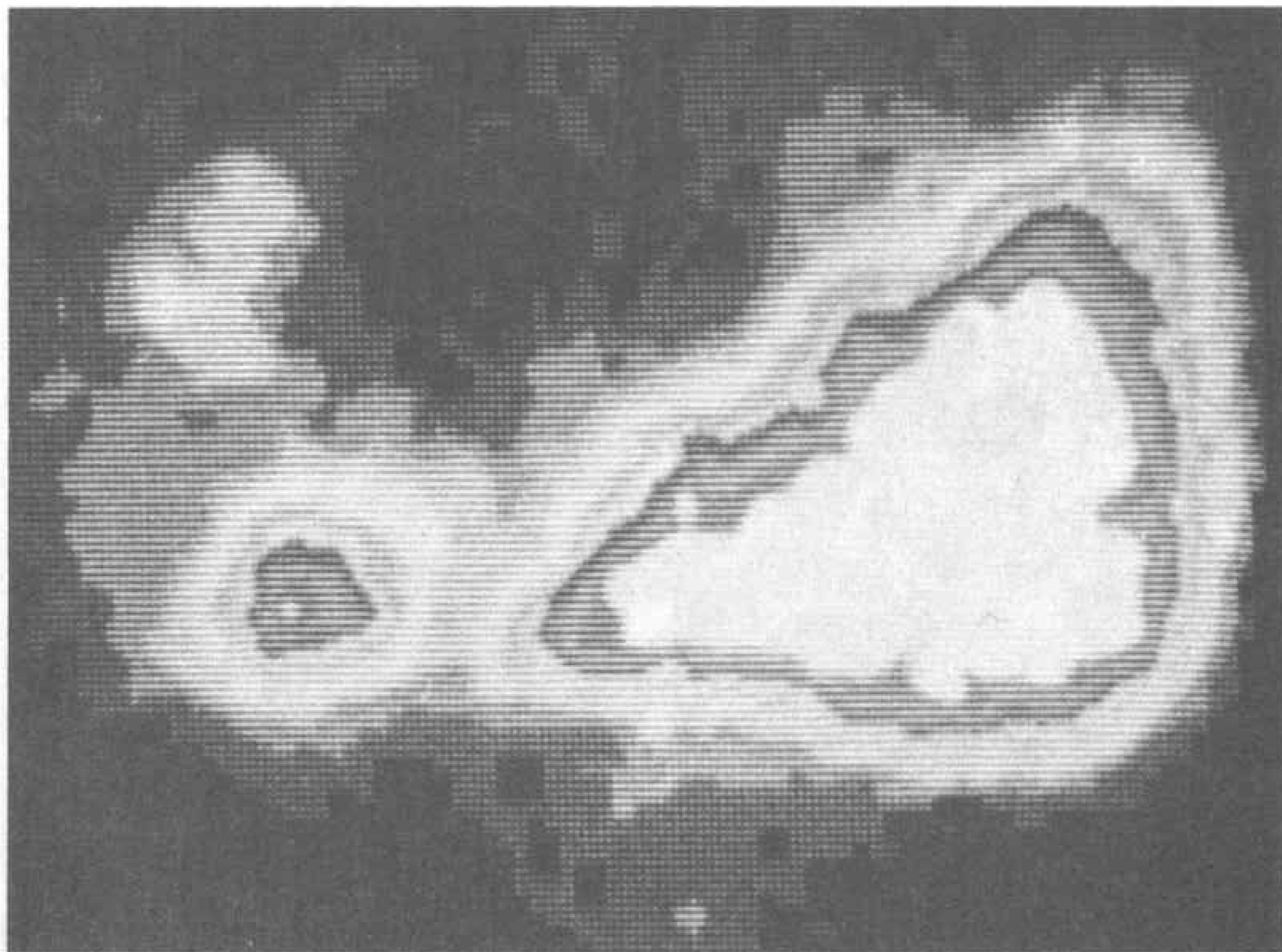


Lámina 11. Células cancerosas de hígado, que se han hecho visibles merced a la incorporación de anticuerpos monoclonales marcados.



Lámina 12. Automóvil con motor accionado por etanol en un campo de caña de azúcar del Brasil. El etanol destinado a combustible se obtiene de la fermentación de la caña de azúcar.

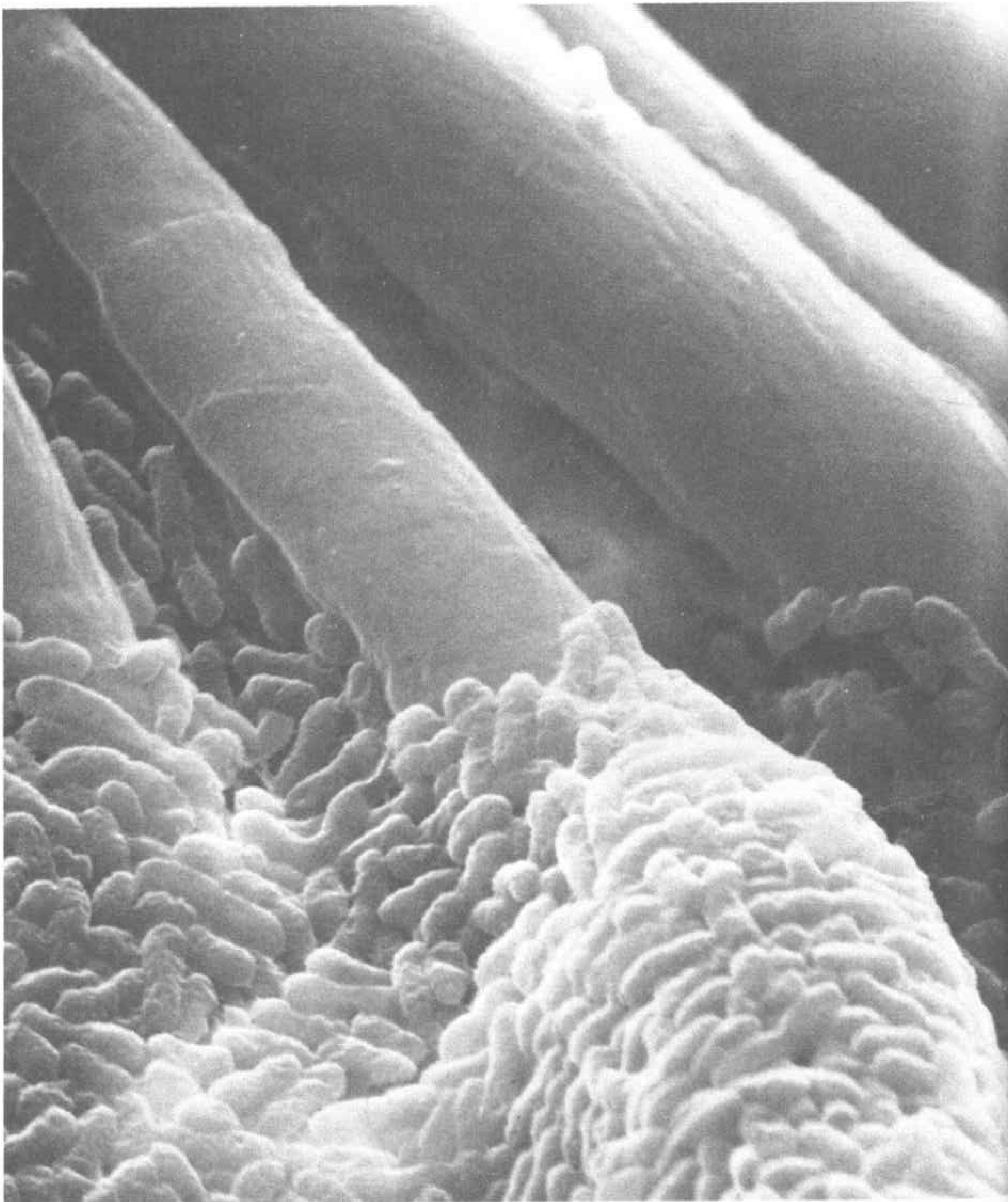


Lámina 13. La *Zymomonas mobilis*, bacteria que fermenta azúcares transformándolos en alcohol, y fijada aquí sobre fibras de algodón. En un sistema de fermentación «continuo» en que las materias primas son rápidamente consumidas en un extremo y el producto final se elimina por el otro, la fijación de las células a un soporte sólido impide que el «flujo» del sistema las elimine a medida que las materias primas avanzan.

Lámina 14. Operaciones de lixiviación en el exterior de la mina Kennecott's Bingham Canyon, cerca de Salt Lake City, Utah. La mina se encuentra a unos ochocientos metros de profundidad y ha producido cerca de doce millones de toneladas de cobre. ▶

V. LA NUEVA REVOLUCIÓN VERDE

La producción media de maíz en los Estados Unidos creció más de tres veces entre 1930 y 1975. Este importante aumento constituye sólo uno de los muchos logros de lo que se conoce como revolución verde. La creación de variedades más productivas de maíz, trigo, arroz y otras muchas especies, junto con un mayor uso del riego, los fertilizantes, los plaguicidas y los herbicidas, han desempeñado un papel fundamental en que la escasez mundial de alimentos fuera menos grave. Si bien la revolución verde no ha constituido un éxito completo (así, por ejemplo, no pueden negarse los adversos efectos ambientales de los plaguicidas), no hay duda, sin embargo, de que ha supuesto una contribución muy importante para el bienestar humano. Pero en los últimos años ha acontecido un considerable descenso de los incrementos de producción que la revolución verde hacía esperar. Los biotecnólogos, y en particular los especialistas en ingeniería genética, confían en poder revitalizar muchos sectores de la agricultura que han de permitir obtener más alimentos a menor precio y, quizás, utilizar tierras actualmente baldías.

NITRÓGENO, LA SOLUCIÓN PARA LA PRODUCCIÓN VEGETAL

Cuando se construye una estructura complicada y coordinada suele existir un componente limitante. Por ejemplo, sería perfectamente inútil —en una fábrica de automóviles— emplear a más personas para aumentar la velocidad de la cadena de montaje si sólo se dispone de las bujías suficientes para completar la producción actual de vehículos. En el caso de las plantas cultivadas, el

límite del crecimiento depende a menudo del nitrógeno presente en el suelo. Es decir, puede tener poco valor aumentar la irrigación de un campo de trigo si el suelo carece del suficiente nitrógeno para soportar el crecimiento vegetal suplementario.

El nitrógeno es necesario para formar la mayoría de los compuestos vitales internos de la célula, entre ellos las proteínas, el ADN y el ARN. Los animales obtienen el nitrógeno que necesitan al comer plantas u otros animales, mientras que las plantas deben extraerlo del suelo. Se ha establecido una sólida industria para satisfacer la vasta, y rápidamente creciente, demanda de fertilizantes que complementen los aportes naturales de nitrógeno del suelo, aunque los costes son elevados y probablemente aumentarán considerablemente en los próximos años. Los agricultores norteamericanos gastan anualmente unos mil millones de dólares en fertilizantes ricos en nitrógeno únicamente para sus cultivos de maíz, mientras que los cuarenta millones de toneladas que actualmente se consumen pueden cuadruplicarse de aquí a finales de siglo si continúa el presente auge. El alza de los precios sólo puede presumirse, aunque es muy significativo que la industria de los fertilizantes depende, en buena medida, del petróleo (consume cerca del 10 % del total del consumo de los Estados Unidos). Es obvia la urgente necesidad de encontrar sustitutivos de los fertilizantes ricos en nitrógeno y, en este aspecto, la ingeniería de los «genes verdes» podría aportar una solución.

En la figura 5-1 se muestra el ciclo del nitrógeno, el proceso global por el cual el nitrógeno circula continuamente entre las plantas, los animales, los microbios, la tierra y la atmósfera. Quizá parezca extraño que pueda existir escasez de nitrógeno cuando el 80 % del aire ambiental consiste en nitrógeno gaseoso, pero para la mayoría de las formas de vida el nitrógeno gaseoso (N_2) es totalmente inutilizable. Las plantas, los animales y la mayor parte de los microbios no tienen manera de incorporar el nitrógeno gaseoso en sus compuestos celulares. Las plantas y la mayoría de los microbios obtienen su nitrógeno generalmente a partir de compuestos como el amoniaco (NH_3) y los nitratos (NO_3). Se dice que el nitrógeno de ésas y otras sustancias está en forma fijada, por oposición al nitrógeno libre del gas N_2. Muchos biotecnólogos de universidades y algunas de las mayores empresas centran su atención en las relaciones existentes entre las plantas y determinados tipos de microbios que pueden fijar el nitrógeno, es decir, extraen el nitrógeno gaseoso del aire e incorporan átomos de nitrógeno en moléculas de amonio, nitratos u otros compuestos que las plantas pueden utilizar.

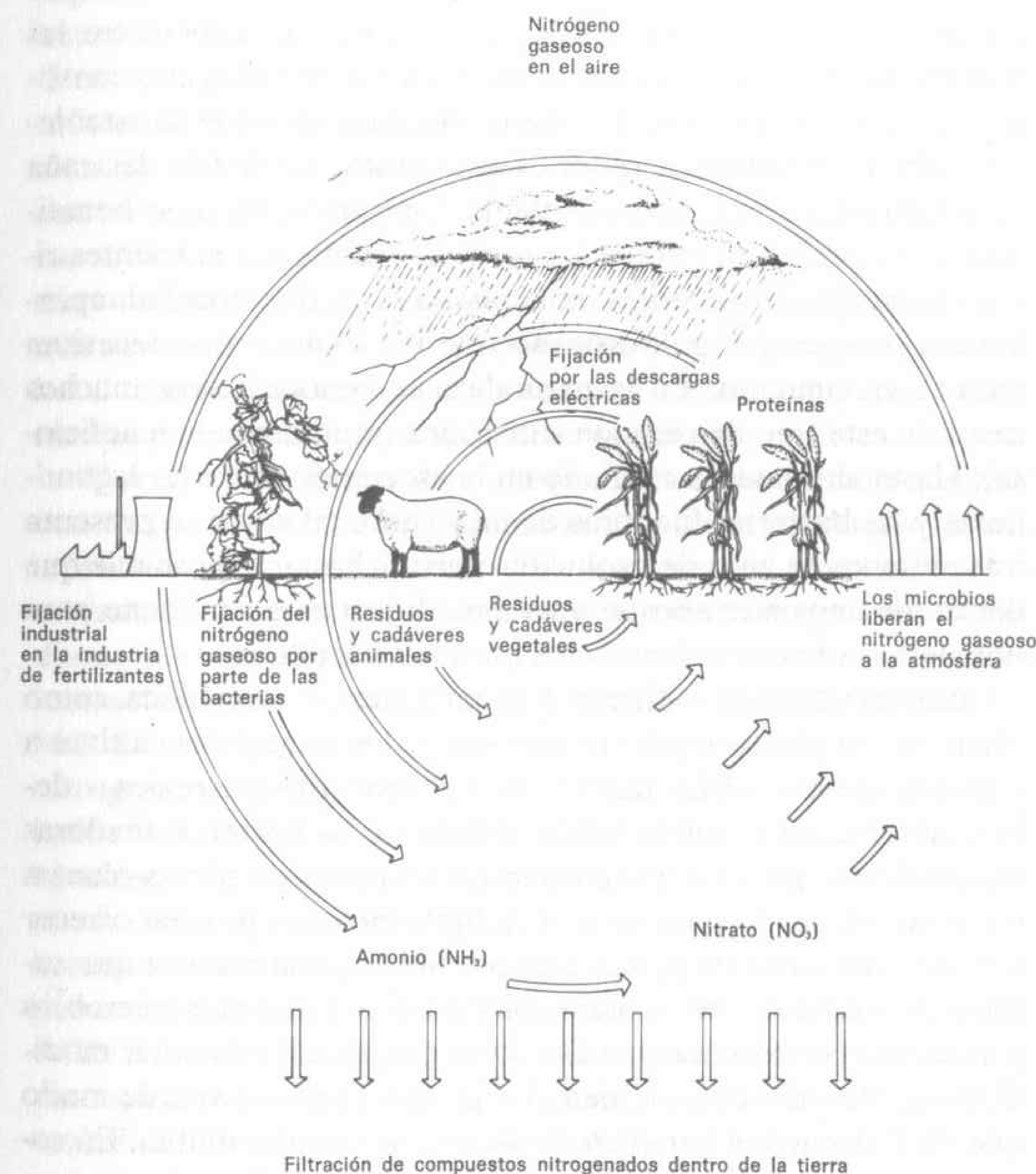


Fig. 5-1. El ciclo del nitrógeno es el movimiento de éste entre plantas, animales, microbios, tierra y atmósfera. El nitrógeno existe bajo la forma de gas nitrógeno (N_2) o también fijado dentro de una amplia variedad de compuestos químicos, incluyendo proteínas, amonios y nitratos.

Desde la época de los romanos, y probablemente antes, se sabe que plantar legumbres, como guisantes, habichuelas o tréboles, en aquellos campos que previamente se han utilizado para cosechar trigo restablece la fertilidad del terreno. Actualmente se conoce la razón: miles de millones de diminutas bacterias viven en las raíces de las leguminosas y fijan el nitrógeno atmosférico y de este modo ayudan a reponer el nitrógeno extraído del suelo por los cultivos de años anteriores. La relación existente entre las plantas leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno constituye el mejor ejemplo de las sutiles interacciones que se establecen entre los millones de especies que constituyen la tela de araña de la vida en la tierra. Tanto la planta como las bacterias se benefician de su presencia mutua: los microbios obtienen nutrientes ricos en energía procedentes de la planta y, en reciprocidad, aportan los compuestos de nitrógeno que las leguminosas necesitan para su crecimiento. En la naturaleza se conocen otros muchos casos de este tipo de relación simbiótica (mutuamente beneficiosa). Hasta ahora se ha confiado en la asociación entre las leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno, tal como se presenta tras millones de años de evolución, pero es bastante probable que dentro de unos diez años se pueda modificar este fenómeno para obtener aún mayores beneficios para la agricultura.

Algunas legumbres tienen gran importancia económica, como el cacahuete y la soja, pero la mayoría de los principales cultivos a escala mundial —arroz, trigo, maíz, cebada y otros cereales— deben labrarse sin la colaboración directa de las bacterias fijadoras de nitrógeno, pues no encuentran en las raíces de dichas plantas un lugar adecuado para vivir. Los biotecnólogos pueden ofrecer tres posibles tipos de ayuda a estos cultivos, con vistas a que saquen provecho de las ventajas ofrecidas por aquellos microbios productores de fertilizantes. En primer lugar, cabe intentar modificar bien los microbios o bien el trigo, o ambos a la vez, de modo que los dos puedan beneficiarse de una asociación mutua. En segundo lugar, quizá sea posible variar otros tipos de bacterias que ya viven en el trigo de modo que, además, fijen nitrógeno y, en tercero y último lugar, podría intentarse, con mayor ambición, obtener por ingeniería genética nuevos tipos de trigo capaces de fijar por sí mismos el nitrógeno atmosférico, y ello mediante la transferencia de genes procedentes de los microbios fijadores de nitrógeno ya existentes.

Los microbios fijadores de nitrógeno que se encuentran en las raíces de las leguminosas son distintas especies de bacterias del género *Rhizobium*. Estos organismos, en forma de bastoncillo, se infiltran por los pelos radicales, se establecen en la misma raíz y producen los característicos nódulos de las legumbres. Las sutiles interacciones entre las bacterias y su planta hospedadora son muy difíciles de desentrañar. En la actualidad no se conoce exactamente la manera como el *Rhizobium* penetra en la raíz, se aposenta en su interior y forma los nódulos, ni tampoco qué tipo exacto de nutrientes recibe de la planta y de qué forma «paga» con compuestos nitrogenados. Antes de conseguir que el *Rhizobium* acepte nuevas moradas, como, por ejemplo, el trigo, será necesario saber más acerca de sus condiciones normales de vida para poder imitarlas al máximo. Se trata de una empresa formidable y, por el momento, parecen más factibles las otras dos vías posibles.

Durante los últimos diez años se han desentrañado muchísimas incógnitas acerca del proceso molecular utilizado por los microbios fijadores de nitrógeno. El rasgo esencial lo constituye un enzima, la nitrogenasa, que absorbe el nitrógeno gaseoso y mediante la energía procedente, en buena medida, de las actividades fotosintéticas de la planta hospedadora, lo convierte en amonio. Más de una docena de genes, denominados genes *nif* (del inglés *ni*trogen-*fi*xation), participan en el conjunto de operaciones de fijación del nitrógeno. A primera vista podría parecer un trabajo hercúleo transferir todos estos genes hasta otro tipo de microorganismo, pero, por fortuna, tal como sucede a menudo con los genes involucrados en una misma función celular, los genes *nif* están ligados: es decir, no se hallan esparcidos entre la gran cantidad de ADN del cromosoma bacteriano, sino próximos entre sí en la propia región del cromosoma. Esto facilita mucho la posibilidad de escindir el fragmento adecuado del ADN del cromosoma de *Rhizobium* e inserirlo entero en otro organismo.

Los especialistas en ingeniería genética ya han dirigido la transferencia de los genes *nif* de bacterias fijadoras de nitrógeno a la *E. coli* y, lo más importante, es que la *E. coli* ha sido capaz de fijar nitrógeno. En este experimento no se utilizaron los genes *nif*

del *Rhizobium*, sino que procedían de la *Klebsiella pneumoniae*, bacteria del suelo que vive independientemente de cualquier planta hospedadora. Dicha bacteria tiene, por lo menos, diecisiete genes *nif* y el que haya sido posible transferirlos todos hasta una nueva morada augura resultados esperanzadores para el futuro trabajo con bacterias incapaces de fijar nitrógeno que actualmente colonizan las raíces de trigo y otros cereales.

Más atractivo aún es el intento de introducir directamente genes *nif* en plantas de cultivo, sin necesidad de contar con ningún tipo de microbio fijador de nitrógeno. Este enfoque plantea buen número de problemas, entre los cuales no es el menor el de engañar las células vegetales para que consideren los genes bacterianos como propios. Como ya se ha mencionado, la división más importante entre todas las formas vivientes es la que separa los eucariotas, en que el ADN se halla en el interior de un núcleo, de los procariotas, que carecen de núcleo. En cuanto a escala molecular, esta distinción es bastante más crucial que las diferencias más obvias entre dos organismos eucariotas, como pueden ser una rata y un tomate. Puesto que todas las bacterias son procariotas y todas las plantas eucariotas, cabe que las plantas cultivadas no «entiendan» a los genes *nif* bacterianos. En particular debe encontrarse la manera de asegurar que las plantas produzcan las suficientes cantidades de las proteínas indicadas por los genes *nif* bacterianos.

Esto presupone, no obstante, que actualmente pueden transferirse genes bacterianos hasta plantas. Ya se han descrito muchos ejemplos de modificaciones genéticas que comportan la transferencia de genes de eucariotas a procariotas (por ejemplo, la de los genes de la insulina humana a la *E. coli*) y desde eucariotas a otros eucariotas (por ejemplo, los genes del interferón humano a levaduras). Estas técnicas, sin embargo, se encuentran bien establecidas en comparación con las que permiten la transferencia de genes procariotas hasta eucariotas, por ejemplo, del *Rhizobium* a trigo. No obstante, en los últimos años se ha progresado mucho en el conocimiento de los vectores eucariotas y en su aplicación: es decir, fragmentos de ADN que pueden transportar hasta las células eucariotas ADN extraño. De la misma manera que los vectores empleados para introducir genes en bacterias, los virus y los plásmidos son los principales tipos de vectores utilizados de modo creciente en la ingeniería genética de los vegetales.

La llave de muchos descubrimientos recientes estriba en una extraña excrecencia denominada agalla de corona (lámina 8), tipo de tumor que afecta a muchas plantas con flor. El tumor en sí consiste en una masa de células de la planta que proliferan con rapidez porque no obedecen los mecanismos normales de control del crecimiento de la planta y, en este sentido, es análogo a los tumores animales. Sin embargo, en las agallas de corona, el agente causal es una bacteria, el *Agrobacterium tumefaciens*, en cuyo interior se encuentra un reducido fragmento circular de ADN llamado plásmido inductor de tumor. Una agalla de corona se produce cuando se transfieren plásmidos inductores de tumor desde las bacterias hasta los cromosomas de la planta infectada; entonces, el cambio de su constitución genética induce las células de la planta a crecer y dividirse muy rápidamente, de modo que este plásmido resulta ser un potencial vector para introducir genes bacterianos en plantas; en la actualidad se estudia este plásmido inductor de tumor en muchos laboratorios, particularmente en Gante y Colonia, donde trabajan sus descubridores, Marc van Montagu y Josef Schell.

Localizado un vector adecuado, resulta posible la utilización de todas las estratagemas de la ingeniería genética descritas en el capítulo II, y entonces se puede intentar el injerto de genes vegetales en otra especie de planta. Constituye una notable característica de este tipo de investigación la posibilidad de regenerar una planta entera a partir de una célula, por lo menos en el caso de determinadas especies. Los jardineros están familiarizados con un proceso muy similar, la propagación vegetativa. Hay algo ciertamente extraordinario en el hecho de que, con cuidado y atención, un fragmento pequeño desgajado de una planta adulta pueda crecer hasta producir una réplica totalmente desarrollada de su progenitor. La operación equivalente da, en el caso de células animales, resultados bastante distintos, ya que si células animales aisladas logran vivir (lo cual muchas veces no es posible), únicamente originan una masa de células exactamente iguales que el tipo original: por ejemplo, las células de riñón de hámster producen más células de riñón de hámster pero no un hámster.

Este fenómeno lleva directamente a uno de los mayores rompecabezas de la biología. En un organismo, cada célula contiene todo el ADN necesario para especificar cualquier necesidad del organismo completo, pero en las células animales, determinados genes quedan desactivados irreversiblemente ya desde fases tempranas del desarrollo. Los genes necesarios para producir garras y bigotes siguen estando presentes en las células de riñón de hámster pero parecen estar permanentemente bloqueados. No sucede

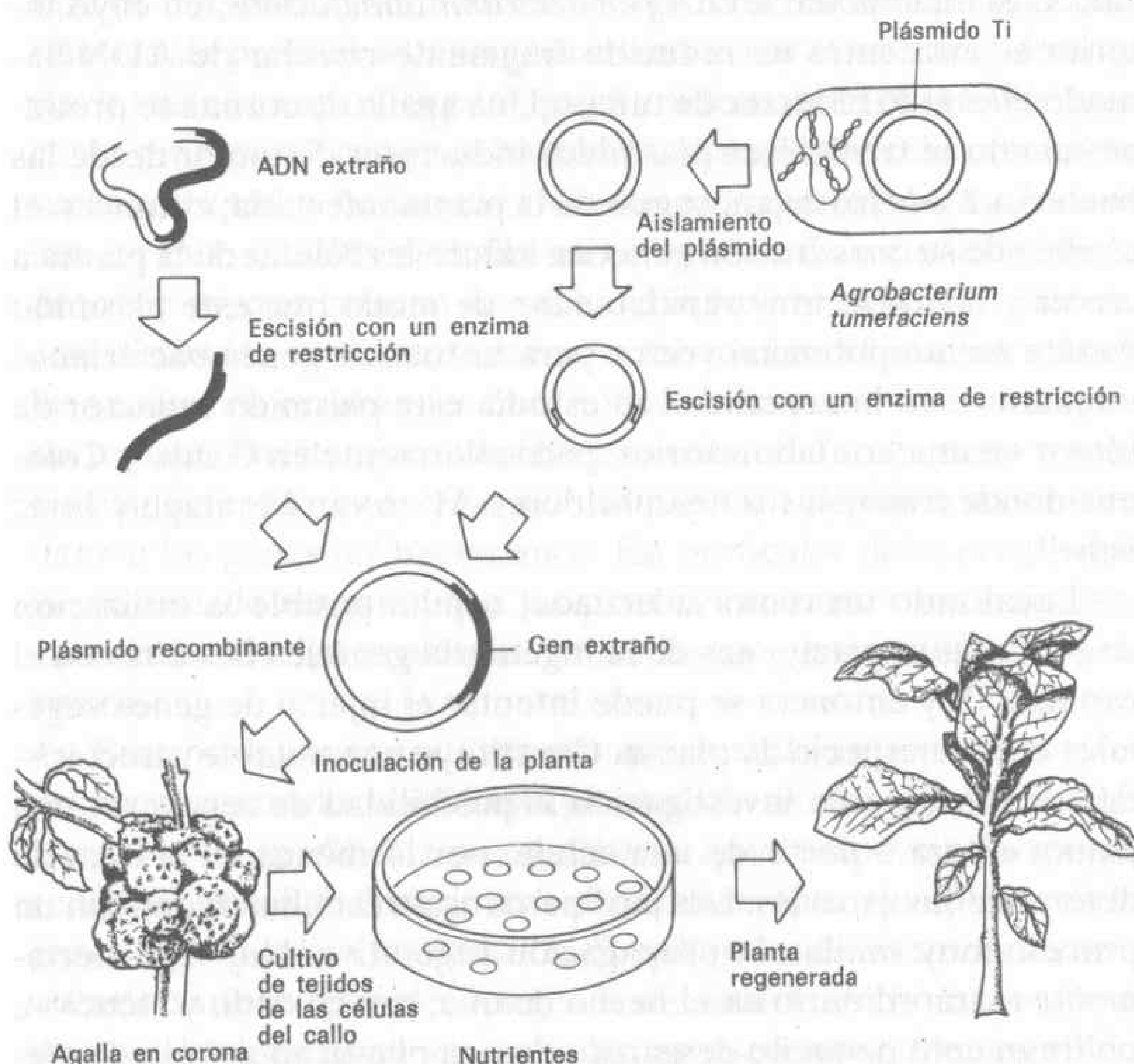


Fig. 5-2. Ingeniería genética vegetal con los plásmidos inductores de tumor de la *Agrobacterium tumefaciens.* Se inserta un gen extraño en el plásmido inductor de tumor, que se utiliza para infectar plantas, y produce una agalla de corona. Todas las células vegetales de la agalla contienen dicho plásmido con su fragmento de ADN extraño. Se cultivan las células del callo en el laboratorio hasta que originen plántulas, que al crecer se podrán plantar al suelo. Puesto que cada planta procede de una sola célula portadora del gen extraño, todas las células de la nueva planta adulta serán protadoras del gen.

lo mismo en muchos tipos de plantas: las células de tallo de tabaco pueden producir una planta de tabaco completa porque todos sus genes son en potencia activos y en condiciones apropiadas pueden generar una planta completa de tabaco a partir de una sola célula.

Esto tiene muchas e importantes consecuencias prácticas, tanto para la ingeniería genética como para la reproducción vegetal normal. En este último sentido significa que a menudo es posible obtener miles de clones (plantas idénticas) a partir de una planta progenitora (véase la página 175).

En la figura 5-2 se ilustra de qué modo puede utilizarse esta propiedad en ingeniería genética. Se han realizado pruebas, y aunque los resultados han sido de diverso signo, en algunos casos el ardid ha tenido éxito y se ha logrado obtener descendencia de plantas modificadas por ingeniería genética que también poseían el nuevo gen.

Esto no significa, por desgracia, que la introducción de los genes para la fijación del nitrógeno en los cereales cultivados esté tan próxima como sería deseable. En realidad, pocas personas piensan que los cereales cultivados con sistemas de fijación del nitrógeno incorporado estén disponibles durante el próximo decenio. De momento existen obstáculos, ninguno de los cuales debería ser insuperable.

Aunque desde hace varios años se sabe que el *Agrobacterium tumefaciens* (con su plásmido inductor del tumor) puede infectar una enorme gama de especies vegetales del grupo de las dicotiledóneas*, hasta 1984 los científicos no descubrieron que también podía infectar cereales y otras monocotiledóneas. Por este motivo, no está muy avanzada la investigación sobre la interacción entre la bacteria y las diversas plantas monocotiledóneas de importancia económica. En la actualidad se trabaja mucho en la investigación sobre este tema, aunque, ciertamente, hay otras opciones posibles.

Una de ellas consiste en utilizar protoplastos para insertarles

* Los términos monocotiledóneas y dicotiledóneas se refieren a que la semilla de la planta posea, respectivamente, una o dos hojas o cotiledones. Muchos árboles forestales, como el roble, el olmo o el haya, así como los árboles frutales, la patata, el tomate, el guisante, la alubia y la col, son dicotiledóneas. Entre las monocotiledóneas se cuentan el plátano, las gramíneas (entre ellas los cereales cultivados), la palmera, el lirio y la orquídea.

los genes deseados. Un protoplasto es una célula vegetal a la que se le ha quitado la pared celular mediante procedimientos especiales, y a la que por tanto es posible introducirle en su núcleo los genes que se desee mediante las mismas técnicas que se emplean para la célula animal. Una vez realizada la manipulación genética, el protoplasto es capaz de originar de nuevo una planta entera (cosa que no pueden hacer las células animales aisladas). Para introducir el ADN en los protoplastos, éstos se someten a la acción de un disolvente orgánico o de pequeños impulsos eléctricos que ayudan a permeabilizar su membrana. La limitación de esta técnica estriba en que, por el momento, sólo es posible obtener protoplastos y conseguir una planta entera a partir de ellos en un número limitado de especies vegetales.

La otra técnica que se ha añadido recientemente a la panoplia de métodos para obtener plantas transgénicas es la del «microbombardeo». En este caso, el ADN que se desea introducir en las células vegetales se adhiere a la superficie de minúsculas esferas de un metal inerte (oro o tungsteno en general). Las partículas así obtenidas son lanzadas a gran velocidad contra la preparación biológica que se quiere transformar. Esta velocidad se adquiere ya sea mediante un cartucho de pólvora, una sobrepresión de un gas o una descarga eléctrica. Las partículas atraviesan las células dejando a su paso el ADN, que puede incorporarse al núcleo celular. La ventaja de esta técnica es que pueden transformarse génicamente células de cualquier especie y de cualquier órgano de una planta. Gracias a ella, por ejemplo, se ha conseguido la transformación génica de los cereales, que no habían podido ser manipulados por ninguna otra técnica.

Obviamente, existen muchos imponderables para que los cereales puedan producir sus propios fertilizantes, aunque parece lícito cierto grado de optimismo cuando se consideran los recientes avances de la ingeniería genética y de la fusión celular, los cuales, en su gran mayoría, resultaban ciencia ficción hace tan sólo diez años. Sin lugar a dudas, la ingeniería genética de los vegetales ofrece posibilidades casi ilimitadas para la agricultura del próximo decenio. Los siguientes ejemplos son sólo unos pocos de otros proyectos que los especialistas en ingeniería genética vegetal han emprendido.

A pesar de su aparente sencillez, la fijación del nitrógeno conlleva algunas reacciones químicas complicadas; no se trata sólo de que el nitrógeno gaseoso se convierte en amoniaco sino que, además, se produce hidrógeno gaseoso. Este proceso es ruinoso, ya que dicha producción de hidrógeno supone grandes cantidades de energía, que si pudiera emplearse correctamente serviría, por ejemplo, para posibilitar la fijación de cantidades adicionales de nitrógeno. Ello podría beneficiar la planta hospedadora de la bacteria, por cuanto proporciona la mayor parte de la energía para el desarrollo del proceso.

Un estudio del *Rhizobium* asociado con plantas de soja realizado en los Estados Unidos ha revelado que muchas bacterias, especialmente en el norte y en el este del país, contienen genes para producir hidrógeno o genes *hup* (del inglés *h*ydrogen-*up*take). Parece que estos genes les dan la facultad de aprovechar el hidrógeno gaseoso para el sistema de la nitrogenasa que fija el nitrógeno, y así almacenar en el nitrógeno la energía que de otra manera se perdería para la planta (fig. 5-3).

La aplicación más inmediata de este descubrimiento consiste en la introducción de los genes *hup* en aquellas cepas de *Rhizobium* que carecen de ellos. En determinados tipos de otras bacterias, los genes *hup* se encuentran en plásmidos, y, si esto fuera cierto para el *Rhizobium*, los plásmidos portadores de *hup* podrían transferirse de una cepa a otra de la especie. Cabe que la adición de la facultad de utilizar la energía contenida en el hidrógeno gaseoso no garantice un aumento importante de la producción de los cultivos por cuanto es probable que cualquier cambio de las características de un organismo tenga muchas ramificaciones, algunas beneficiosas aunque otras probablemente no lo sean. La complejidad cabal de la vida en su escala molecular, con su laberinto de intrincadas relaciones entre una función y las restantes (en este caso, la absorción de hidrógeno y la tasa de desarrollo), hace casi imposible precedir con certeza las consecuencias globales de cualquier alteración. Aquí, las relaciones de simbiosis entre el *Rhizobium* y las plantas de soja complican de manera adicional el problema y dificultan aún más las estimaciones de los efectos en ambos organismos. Obviamente, se han realizado experimentos para valorarlos. Si realmente las plantas se desarrollaran mejor se podría intentar la introducción de los genes *hup* directa-

Fig. 5-3. Los enzimas nitrogenasas de las bacterias fijan el nitrógeno al convertir el nitrógeno gaseoso (N_2) en amoniaco (NH_3), utilizando la energía y los iones aportados por sus plantas hospedadoras. El proceso también produce hidrógeno gaseoso, rico en energía. Algunas bacterias poseen asimismo enzimas hidrogenasas, capaces de absorber el hidrógeno gaseoso y convertirlo en iones hidrógeno liberando energía, la cual puede utilizarse de nuevo en el sistema nitrogenasa.

mente en los cultivos que hubiesen recibido asimismo la propiedad de fijar nitrógeno.

Otros genes que los especialistas en ingeniería genética estudian con creciente interés son los genes *osm*, relacionados de alguna manera con la facultad de la planta para afrontar determinados esfuerzos, tales como la carencia de agua, el calor, el frío o las sales del suelo. El efecto de todas estas condiciones adversas es forzar el agua a pasar, hacia el interior o hacia el exterior, de las células del vegetal por un proceso de ósmosis (de donde el nombre de los genes implicados). Millones de hectáreas, en el mundo entero, no

se utilizan para la agricultura debido al frío, la insuficiencia de agua o la elevada salinidad. Una tarea prometedora (a diez años vista, por lo menos) consiste en introducir los genes *osm* en plantas cultivadas, con la esperanza de abrir vastas extensiones de tierra improductiva a su uso en agricultura.

Quizá resulte más factible, en comparación, una simple modificación de los genes vegetales que podría resultar de gran valor para la humanidad. El equilibrio de los aminoácidos contenidos en muchas proteínas de la semilla de los cereales (las proteínas de reserva) no es el ideal desde el punto de vista de la nutrición humana ni de la de los animales domésticos. En particular, muchas de tales proteínas de reserva son pobres en lisina, uno de los aminoácidos esenciales; por esta razón a menudo se añade la lisina a los piensos (véase la página 197).

Parece posible que alterando tan sólo algunas bases del ADN que codifican a estas proteínas se pudiera obligar a las plantas a producir proteínas que se adaptaran mejor a necesidades de la nutrición del hombre sin por ello significar graves perjuicios para la propia planta. Probablemente sea pernicioso este tipo de modificación de las proteínas de un organismo, ya que, por ejemplo, si se altera la secuencia de aminoácidos de un enzima vegetal, puede dañarse la función catalítica esencial y acarrear la muerte de la planta o causarle un trastorno. En el caso de las proteínas de reserva hay algo más de margen. Como su nombre indica, las proteínas de reserva son, principalmente, lugares en que se transfieren aminoácidos de una generación a la siguiente hasta que resulten necesarios para la elaboración de otras proteínas. Hay buenas razones para pensar, por tanto, que ligeras modificaciones de las proteínas de reserva —por ejemplo, la introducción de lisinas adicionales— no causarían graves daños a la planta aunque las convertirían en más nutritivas.

LA DESOLACIÓN DE LAS ENFERMEDADES VEGETALES

Hacia 1840, el cultivo de la patata quedó gravemente afectado por una enfermedad infecciosa, el añublo de la patata, y esta especie dejó de ser la principal fuente alimenticia para la gente más

pobre de Europa; Irlanda sufrió especialmente las consecuencias, pues perdió un tercio de su población entre el hambre y la emigración a medida que las patatas dejaban de ser plantas vigorosas para convertirse en unos pocos días en tallos desnudos. En 1970, un tizón epidémico de la hoja del maíz se abatió sobre dicho cultivo en los Estados Unidos con unas pérdidas evaluadas en unos mil millones de dólares. En ambos casos se trataba de infecciones fúngicas, y éstos son sólo dos ejemplos espectaculares de los daños continuados que soportan las previsiones alimenticias del hombre.

La ciencia de la patología vegetal, es decir, de las causas de las enfermedades de las plantas, continúa progresando a remolque de los daños que afectan a la humanidad, aunque durante los últimos diez años se ha conseguido conocer mejor muchas enfermedades, hasta el punto, en algunos casos, de llegar a vencerlas. Muchas enfermedades vegetales que tienen repercusión económica son muy específicas. Una forma particular del hongo que produce el añublo puede expandirse como el fuego por una población de un tipo de patata pero no afectar a otra variedad muy semejante de la misma especie. Una solución obvia sería plantar únicamente aquellas variedades de patata resistentes, aunque, huelga decirlo, la naturaleza es raramente tan sencilla, y una patata resistente a determinada infección fúngica puede ser vulnerable a otra y, además, cabe que dicha patata no presente el gusto adecuado, ni la forma, el color u otros factores que hacen de ella un producto comercialmente valioso.

En el transcurso de los siglos, y en particular en los últimos años, los mejoradores de vegetales han tenido un inmenso éxito en el cruzamiento de distintas variedades vegetales para producir híbridos que reúnan las características positivas de ambos progenitores. Resulta clara la importancia que tiene para los suministradores de semillas híbridas, con un volumen de negocio de muchos millones de dólares, asegurar que todas las hornadas de ellas sean del tipo correcto. El mecanismo de control actual consiste en cultivar una muestra de las semillas y examinar la planta resultante; esto lleva tiempo y significa, por descontado, que el lote de semillas no pueda venderse con garantías hasta haberse completado la prueba. Ahora se realizan nuevas pruebas basadas en técnicas proyectadas por los biotecnólogos. Un método estriba en analizar el tipo de enzimas que contienen las semillas. En las semillas híbridas hay enzimas ligeramente diferentes de los de cada progenitor. En el futuro podrán ser de uso común en la industria productora de semillas métodos más rápidos y más precisos basados en sondas de ADN, que también servirán para averiguar si las semillas están infectadas por virus que puedan afectar al vigor o la producción del cultivo.

Virtualmente todos los principales cultivos vegetales a escala mundial se han desarrollado mediante técnicas tradicionales, tales como la polinización cruzada. Este método presenta, sin embargo, una limitación inherente: sólo se pueden cruzar las variedades muy próximas y obtener de ellas híbridos fértiles. Las técnicas de fusión de protoplastos que tan rápidamente progresan hoy pueden ayudar a soslayar este obstáculo natural para la creación de nuevas variedades vegetales. Es posible eliminar las gruesas paredes que envuelven la célula vegetal y dejarla desnuda. Entonces se puede obligar a los protoplastos de especies bastante diferentes a fusionarse para formar una sola célula híbrida. En algunos casos, a partir de esta célula única puede llegar a constituirse una planta adulta completa: así, por ejemplo, las plantas de «pomato» son híbridos producidos a partir de tomates y patatas.

En la actualidad se trabaja mucho en la investigación de nuevas variedades de cultivos resistentes al mayor número posible de enfermedades. Las plantas del tabaco son particularmente fáciles de modificar en el laboratorio, y las técnicas de fusión de protoplastos ya han producido una variedad de nuevas plantas del tabaco que parecen resistir a la esfinge del tabaco, insecto bastante común y dañino en las plantaciones de esta especie. En 1985, un grupo de científicos belgas comunicó los primeros éxitos obtenidos en la tentativa de dotar a vegetales de resistencia a ciertas plagas mediante la ingeniería genética. Dichos científicos insirieron en plantas del tabaco los genes de una bacteria que ataca al intestino del insecto. Aunque la investigación sobre tales métodos de creación de nuevos cultivos está sólo en sus comienzos, ya ha suscitado considerables inversiones de la industria alimentaria; así, por ejemplo, Campbell's Soups ha destinado más de diez millones de dólares a la investigación de una mejor variedad de tomate.

La regeneración de plantas a partir de células tomadas directamente de los tejidos vegetales y no por fusión de protoplastos, tiene, por el contrario, gran importancia económica en la actualidad. Los espárragos, las fresas, las piñas o la palmera de la que se obtiene el aceite de palma pueden propagarse hoy a partir de células extraídas de una planta adecuada, de las que se obtienen réplicas completas a partir de cada célula. La misma técnica es también de uso general para el vivero de muchas otras especies, entre ellas las coles de Bruselas, las coliflores, los plátanos, los claveles y los helechos, e incluso se está ensayando este método con el pino de California.

La gran ventaja de este método de propagación vegetal es que permite obtener muchos miles de copias idénticas, o clones, a partir de una sola planta. En cambio, si se cultivan plantas producidas por las semillas de un vegetal elegido se obtiene gran variación individual, ya que cada semilla tiene una constitución genética distinta, en función de cómo se han distribuido en cada caso los genes de los dos progenitores. Por otro lado, muchas enfermedades vegetales víricas se transmiten de generación en generación por las semillas. Efectuando la clonación de plantas libres de virus puede reducirse la propagación de dichas enfermedades.

En términos de economía, uno de los proyectos de más envergadura de la clonación de vegetales es la introducción en Malasia de más de mil palmeras, de las que se extrae el aceite de palma, obtenidas por este método. Las ventas anuales de aceite de palma ascienden a más de cinco mil millones de dólares, incluido su empleo en la fabricación de margarinas. Descubierta una palmera de dicha especie extremadamente resistente a las enfermedades y que producía entre el 20 y el 30 % más de aceite de palma, tenía sentido obvio producir copias múltiples de dicha planta. Unilever lo consiguió hace quince años y su plantación experimental está dando buenos resultados.

Más recientemente, investigadores australianos han logrado la clonación del eucalipto de ribera. La importancia de ello reside en que dichos árboles pueden crecer en suelos muy salados no apropiados para la agricultura, es decir, en tierras que se pueden dedicar a plantar eucaliptos. La esperanza está en que al crecer extraigan el agua del suelo, lo que permitiría limpiar las sales de las capas superficiales del suelo. Casi medio millón de kilómetros cuadrados de tierras están gravemente aquejadas de exceso de sales, lo que revela el inmenso porvenir de dicho proyecto. Incluso en el caso de que los eucaliptos u otros árboles que toleran las sales no resultaran adecuados para preparar el terreno a la agricultura tradicional, la madera así obtenida de un terreno de otro modo improductivo tendría su valor, particularmente en aquellos países, como la India, con grandes extensiones saladas e improductivas y acuciante necesidad de combustibles.

PERSPECTIVAS ACTUALES

Las técnicas para la introducción de genes manipulados in vitro en vegetales son múltiples y son ya de rutina en muchos laboratorios para diversas especies. Sus posibles aplicaciones comerciales han animado a varias empresas a comercializar estos nuevos vegetales *transgénicos* (es decir, con genes modificados mediante ingeniería genética). Para 1994 se espera la introducción en el mercado de la primera planta comercial transgénica, un tomate que retrasa su proceso de maduración gracias a que tiene alterado el nivel de la hormona que regula este proceso. En los campos experimentales de las principales empresas productoras de semillas del mundo se están terminando las pruebas de plantas resistentes a virus, a insectos, que tienen una mayor tolerancia para los herbicidas, que tienen su color alterado o que son incapaces de generar polen.

VI. BIOTECNOLOGÍA, DESDE EL CAMPO AL SUPERMERCADO

Disfrutar de salud sin una buena alimentación es casi imposible. Mientras se discute mucho sobre lo que constituye exactamente una «buena» alimentación, resulta evidente que muchos millones de personas están crónicamente mal alimentadas desde cualquier razonable índice con que se mida.

Históricamente, la biotecnología encontró sus primeras aplicaciones en la producción de alimentos: en la fabricación de pan y bebidas alcohólicas y en la cosecha de algas para alimentarse que practicaban siglos atrás los indios mexicanos. Las aplicaciones presentes y futuras ofrecen alimentos con mayor abundancia, a menor coste, con mayor valor nutritivo, en mayor variedad y con sabores más atractivos que los que se disponen actualmente.

Hasta ahora, la mayor repercusión de la biotecnología ha sido en la industria de preparación de alimentos, aunque en los próximos años se realizarán importantes avances en la producción de alimentos a partir de microbios, plantas y animales, que podrán beneficiar tanto al grupo de los mal nutridos como al de los bien alimentados de la población humana.

CEBAR LA INDUSTRIA CÁRNICA

Un brote de glosopeda es un revés abrumador para los ganaderos de vacuno, que entraña el sacrificio de todas las reses afectadas, lo cual puede suponer una pérdida económica cuantiosa al tiempo que deben paralizarse todos los movimientos de reses dentro de la zona contaminada. Esta enfermedad también afecta al cerdo, las ovejas y las cabras y es endémica en Asia, África y Suda-

mérica. En la actualidad, aquellos países en que sólo se dan brotes ocasionales (como Gran Bretaña y los Estados Unidos) controlan la enfermedad sacrificando el ganado enfermo. Esto resulta costoso, igual que el actual sistema de vacunación empleado en aquellos lugares donde la enfermedad es común. Sin lugar a dudas, ambos tipos de regiones resultarían beneficiadas grandemente con una vacuna más barata y más eficaz, que quizás esté disponible muy pronto. Debido a que se propaga fácilmente, ninguna zona de la Tierra está a salvo de su azote y constituye la enfermedad infecciosa de los animales domésticos de mayor importancia económica.

Un pequeño virus, próximo al causante de la poliomielitis y también al del resfriado común, produce la glosopeda.

La importancia del problema ha atraído la atención de muchos científicos de la industria y del sector público, especialmente los del Animal Virus Research Institute, de Pirbright (Bran Bretaña), y los del Plum Island Animal Disease Laboratory, del Estado de Nueva York. Se ha realizado la clonación del gen que codifica una de las proteínas de la envoltura, VP1, y se ha inserido en la *E. coli.* Una vez purificada esta proteína, es muy probable que actúe como una vacuna eficaz contra el virus de la glosopeda.

Más de mil millones de dosis de la vacuna actual se inyectan anualmente, aunque dicha vacuna, que se obtiene infectando cultivos de células de hámster, es cara y debe administrarse todos los años para mantener un grado alto de inmunidad. Las vacunas VP1, producidas por ingeniería genética, podrían ofrecer considerables ventajas en términos de coste y eficacia.

La vital importancia económica de la erradicación o, por lo menos, del control de las enfermedades víricas de los animales, así como el papel que la ingeniería genética puede desempeñar en ello, han sido reconocidos por la Organización para el Desarrollo Industrial de las Naciones Unidas. Este organismo ha concedido preferencia a la búsqueda de vacunas obtenidas mediante ingeniería genética para combatir varias enfermedades, entre ellas la glosopeda, la rabia —que ocasiona pérdidas por valor de decenas de millones de dólares, especialmente en Sudamérica—, la anemia caballar africana —que rebrota periódicamente y que, por ejemplo, mató 300.000 caballos, mulas y asnos en el Oriente Medio

hace quince años—, así como una enfermedad ovina, la lengua azul, que si bien limitada a África también se da en Europa y en los Estados Unidos.

Las vacunas veterinarias tienen importancia no sólo por su valor intrínseco, sino también porque pueden emplearse para poner a prueba determinadas técnicas que más tarde podrán utilizarse para preparar vacunas contra enfermedades humanas. El primer producto surgido de la ingeniería genética puesto a la venta fue una vacuna contra una enfermedad bacteriana del cerdo. Esta enfermedad, que causa diarreas, acarreaba la muerte del 10 % de los lechones criados en granjas intensivas en Holanda y, en 1982, la firma holandesa Akzo empezó a vender la vacuna, obtenida por ingeniería genética, contra dicha enfermedad. De modo similar, las aves de granja son susceptibles al virus de la enfermedad de Newcastle, y existe un valioso y floreciente mercado para la vacuna contra esta enfermedad. Beneficios aún mayores se seguirían de una vacuna contra las formas animales de la enfermedad del sueño, transmitida por la mosca tsetsé, lo que permitiría dedicar grandes extensiones del continente africano a la cría del ganado vacuno.

Los interferones animales —agentes antivíricos naturales— también tienen un papel en la reducción de los gastos en la práctica ganadera. En 1984, la Food and Drug Administration de los Estados Unidos autorizó el uso de interferón obtenido por ingeniería genética para tratar el «mareo del ganado vacuno» en Texas. Esta compleja enfermedad es bastante común en las reses que han sufrido el ajetreo del transporte desde las granjas de cría al mercado. Las estimaciones de las repercusiones económicas de dicha dolencia para los productores estadounidenses de carne se elevan a unos setecientos millones de dólares anuales.

Al tiempo que mantiene la salud de los animales domésticos, la biotecnología puede incrementar de manera considerable las producciones. Las inyecciones de hormona bovina del crecimiento pueden aumentar la producción lechera de las vacas más del 40 %, así como determinar al mismo tiempo un aumento de peso de este ganado del 10 al 15 %. A la vista de la enorme importancia de las industrias lechera y cárnica, no debe sorprender que, por lo menos, cuatro de las principales empresas de ingeniería genética in-

tenten hacerse con una parte del vasto mercado potencial de hormona bovina del crecimiento, que se estima, sólo en los Estados Unidos, en unos doscientos cincuenta a quinientos millones de dólares. Ya se ha efectuado la clonación del gen y es probable que cuando el producto esté disponible le sigan sus correspondientes versiones ovina y porcina.

Parece algo difícil que una oveja se esquile a sí misma, pero, en cierto sentido, esto ya existe. La lana de oveja, igual que el pelo humano, se forma en el interior de las células de la piel y su tasa de crecimiento está controlada, en parte, por una hormona, el factor del crecimiento epidérmico (EGF). Si se administra a la oveja una dosis extra de EGF, la lana crece más rápidamente y cada pelo se hace más delgado. Así, una dosis de EGF produce el adelgazamiento de los pelos que se están formando en el interior de la piel. Al cabo de pocos días, el punto de estrechamiento emerge de la superficie de la piel hacia la capa de lana visible y en esta fase un simple cepillado hace caer los pelos, y se puede recoger la lana sin necesidad del clásico esquileo.

Como cabe suponer, la mayor parte de la investigación acerca de este curioso fenómeno se realiza en Australia, pero el que resulte comercial depende de, por lo menos, la solución de dos problemas. En primer lugar, los biotecnólogos han de proceder a la clonación del gen EGF, lo que produciría grandes cantidades de proteína EGF ovina, lo cual no supone actualmente dificultades insuperables. El segundo problema es más trivial, aunque igualmente importante. Dado que el punto de adelgazamiento tarda unos días en salir a la superficie, no se puede cepillar ni recoger la lana hasta unos días después de la administración de EGF. Mantener a las ovejas estabuladas durante este tiempo resulta caro, pero dejarlas vagar libremente por los prados puede ocasionar la caída de la lana con el primer roce con un arbusto, un cercado u otra oveja. El trabajo de recoger la lana esparcida por cientos de hectáreas es probablemente mayor que el de esquilar las ovejas según el método tradicional. Obviamente, la realidad económica —el coste de la EGF más el del estabulado del ganado frente al coste del esquileo tradicional— decidirá si esta curiosa rama de la biotecnología se convierte en una realidad comercialmente viable.

LOS MICROBIOS EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS

La expresión «preparación de alimentos» tiene ciertamente un dejo antinatural y en la actualidad, cuando la presentación puede prevalecer frente al contenido, sus connotaciones negativas quizá no sean completamente injustas. Sin embargo, la preparación es más la regla que la excepción, pues la simple cocción ya constituye un tipo de preparación. Más relacionadas con el contenido de esta sección son las muy comunes formas de preparación de alimentos que requieren la ayuda de microbios: por ejemplo, la preparación del trigo para fabricar pan, la de la uva para obtener vino, o la de la cebada para producir cerveza, o la de la leche hasta el queso o el yogur o la transformación de los vegetales en encurtidos y adobos. Incluye también aquellas sustancias que se añaden a los alimentos para preservarlos o hacerlos más gustosos o para mejorar su valor nutritivo, muchas de las cuales proceden de microbios, todo lo cual hace más evidente la influencia de la biotecnología en la dieta humana.

La humanidad ha sabido cómo utilizar los microorganismos, especialmente las levaduras, desde el neolítico, mucho antes de que se supiera la existencia de microbios. El descubrimiento de que podían obtenerse bebidas embriagantes a partir de uva, arroz, cebada y otros cereales debió ser muy probablemente accidental: una contaminación fortuita del jugo de especies adecuadas por determinada levadura, como las que recubren las uvas. Durante siglos, los cerveceros y los bodegueros han aprendido a controlar este caprichoso proceso. Algunos tipos de microbios producen una bebida más fuerte que otras y se habrían seleccionado éstas para su uso futuro. Finalmente se irían estableciendo determinados sabores para los distintos tipos de bebidas, con lo cual perdería importancia un aspecto del desarrollo biotecnológico, la selección de los microbios más apropiados.

La utilización de cepas distintas de levadura producirá cambios en, por ejemplo, la cerveza, cambios que, por regla general, deben reducirse al mínimo una vez un producto ha sido aceptado por los consumidores. La industria cervecera podría buscar una levadura que diera una cerveza con mayor contenido de alcohol si

ello pudiera significar la reducción de los costes de fabricación. Pero el aroma y el aspecto de la cerveza dependen de muchos factores, de los cuales algunos aún se conocen mal. De ahí la dificultad de encontrar una nueva cepa de levadura que posea las cualidades deseables, tales como producir una bebida más fuerte pero que conserve la correcta mezcla de aromas y otras características. Por estas y otras razones dos tipos de levaduras dominan en la industria cervecera. La *Saccharomyces cerevisiae* se emplea para fabricar la tradicional cerveza de estilo inglés, denominada cerveza de fermentación alta, debido a que este tipo de levadura tiende a flotar en la superficie del tanque de fermentación. Por el contrario, las cervezas reposadas se obtienen con la ayuda de una levadura de fermentación baja, *Saccharomyces carlsbergensis,* que recibe su nombre de haber sido aislada en el Carlsberg Institute de Copenhage, por Emil Christian Hansen.

La industria cervecera ha puesto los cimientos de buena parte de la nueva revolución biotecnológica y constituye la biotecnología más desarrollada, con un volumen de negocios anual de miles de millones de pesetas. Parece un contrasentido, sin embargo, que se beneficie relativamente poco de los avances más recientes. Existen, no obstante, algunas posibilidades, de las cuales una de particular interés se refiere a las cervezas ligeras. Se trata de cervezas con pocos hidratos de carbono, las cuales no deben confundirse con las más familiares y rubias *ales*, comercializadas desde hace muchos años en el Reino Unido. En los Estados Unidos, y en menor medida en Gran Bretaña, las cervezas ligeras han ganado gran popularidad. Las levaduras que tradicionalmente emplean los cerveceros no son capaces de fermentar las dextrinas, que constituyen aproximadamente una cuarta parte de los hidratos de carbono del líquido inicial de fermentación. Una levadura próxima (que no se utiliza en la industria), la *Saccharomyces diasticus,* puede transformar las dextrinas en alcohol, y así reducir el contenido de hidratos de carbono de la cerveza. Los genes responsables de este proceso se han introducido en las levaduras de cerveza normales. Este método se encuentra todavía en fase de experimentación, en la medida en que el sabor de la cerveza resultante se aleja del satisfactorio, aunque investigaciones adicionales empiezan a mostrar de qué manera puede mejorarse.

El papel de la ingeniería genética en la industria cervecera del futuro quizá sea incierto; pero ya empieza a estar firmemente asentado otro aspecto bien establecido de la biotecnología: la utilización de diversos enzimas procedentes de los microoganismos. Una de las fases más costosas de la producción de cerveza es la del malteado, durante la cual se hace germinar el grano de cebada. La principal reserva alimenticia del grano de cebada son las moléculas de almidón, compuestas por muchas subunidades de glúcidos engarzadas según cadenas ramificadas (fig. 6-1). Dichas subunidades de glúcidos, por sí solas o en cadenas de dos, constituyen una excelente fuente energética para las levaduras, que cuando las consumen producen más alcohol. Las levaduras de cerveza no pueden aprovechar las complejas moléculas de almidón, pero durante la germinación de los granos de cebada se liberan unos enzimas que fragmentan las cadenas de almidón en porciones asequibles al consumo de las levaduras.

Durante los últimos años se han ideado algunos métodos que permiten reducir los costes del proceso de malteado. Determinadas especies de bacterias también producen algunos de los enzimas que atacan el almidón, en especial las amilasas. En la actualidad y en escala comercial, estas amilasas se obtienen a partir de bacterias, lo que representa un volumen anual de ventas de varios

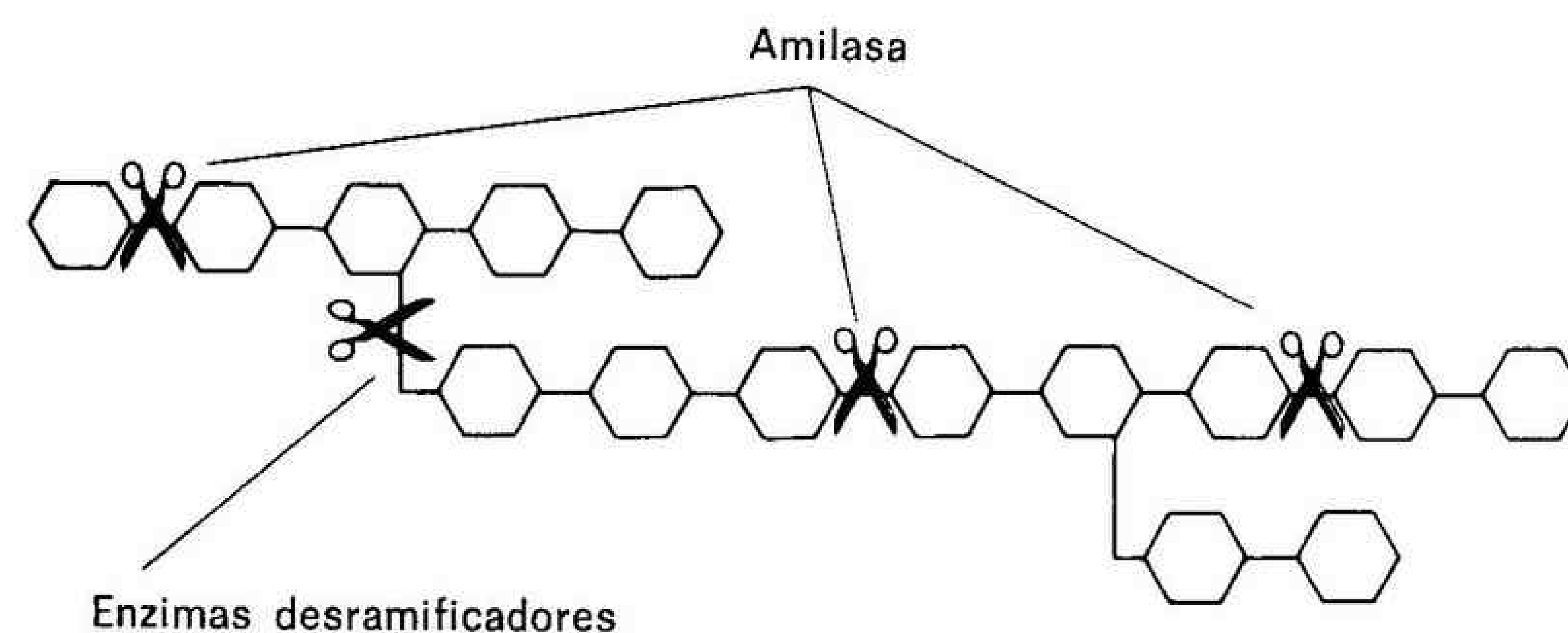


Fig. 6-1. El almidón está constituido por cadenas ramificadas de subunidades de glúcidos. Las amilasas producidas por germinación de la cebada o por las bacterias son capaces de romper los enlaces y así forman cadenas de glúcidos más cortas, que las levaduras pueden consumir. Los enzimas «desramificadores» pueden cortar los puntos de ramificación de la cadena.

millones de pesetas. Cuando se añaden al tanque de fermentación pueden realizar algunas de las funciones tradicionalmente desempeñadas por los enzimas de la cebada malteada, lo cual permite emplear parte de la cebada no malteada, más barata, sin que ello afecte al producto final.

La transparencia de la cerveza, como todos los conocedores saben, es muy importante respecto a las ventas. Una cerveza se enturbia por varias razones, una de las cuales —el exceso de proteínas del líquido— puede eliminarse con ayuda de enzimas. Las proteasas son, como su nombre indica, enzimas que destruyen proteínas. A diferencia de la mayoría de los enzimas, las proteasas son a menudo bastante inespecíficas: enfrentadas con cualquier tipo de proteínas pronto las dejan reducidas a fragmentos pequeños.

La proteasa más utilizada es la papaína, enzima que se extrae del fruto de la papaya (y que también se utiliza para reblandecer la carne, atacando sus fibras). Los japoneses, los primeros mundialmente en la aplicación industrial de enzimas, han hallado microorganismos que producen proteasas. La Kirin Brewing Company ha descubierto que una mezcla de papaína y proteasa obtenida de la bacteria *Serratia marcesens* es más efectiva para eliminar la turbidez de la cerveza que ninguno de los dos enzimas por separado. Las proteasas de origen bacteriano, para ésta y otras aplicaciones, se venden en grandes cantidades: más de quinientos millones de toneladas anuales por un importe de varios miles de millones de pesetas, en todo el mundo:

Los cerveceros y los investigadores que trabajan para esta industria han contribuido, en especial desde los tiempos de Pasteur, a poner sólidos cimientos para buena parte de la biotecnología del futuro. Han alcanzado una experiencia sin par, obtenida en el transcurso de muchos años, en el arte de poner los microorganismos a trabajar en una industria conocida: se han asegurado de que se dieran las condiciones adecuadas para realizar su tarea, han excluido los organismos contaminantes, han aportado vastas cantidades de materias primas, han refinado los productos del proceso biotecnológico para poder representarlos en forma comercial y han reducido al mínimo los costes. Todos estos conocimientos tienen un valor incalculable para poder transformar las nuevas, y quizá más atractivas, biotecnologías en realidades económicas.

Tras las industrias de fabricación de bebidas alcohólicas se sitúan en segundo lugar, en términos de ventas, aquellas que emplean microbios para fabricar productos lácteos, principalmente quesos, mantequillas, kéfir y yogures.

Los principios de la fabricación del queso varían poco de un queso a otro, aunque las técnicas específicas, en particular la enorme variedad de microbios utilizados, difieren en extremo. El primer paso consiste en añadir bacterias a la leche fresca, que la agrían al convertir la lactosa, el azúcar de la leche, en ácido láctico. Luego se añade un enzima que rompe las proteínas y origina la coagulación de un producto sólido que se separa del líquido remanente y permite la posterior maduración del queso. Durante los comienzos de la maduración pueden agregarse microbios de otros tipos para otorgar las particulares características de cada clase de queso.

Las bacterias que actuán primero en la leche son, por lo general, del género de los *Streptococcus,* aunque la variación es mucho mayor por lo que respecta a los microbios utilizados en fases posteriores. Sus nombres, *Penicillium camemberti* o *Penicillium roqueforti,* por ejemplo, revelan la utilidad de algunos de estos microbios. Algunos quesos, como el gruyère, tienen ojos producidos por la adición de bacterias lácteas que producen dióxido de carbono gaseoso. En el fondo, se trata del mismo principio al que se recurre cuando se emplean levaduras, que también producen dióxido de carbono, para fermentar el pan.

El malogramiento ocasional de la fermentación de la leche, que a veces experimentan los cultivos bacterianos, constituye uno de los mayores problemas de la industria del queso. Así, por ejemplo, en Australia esto supone unas pérdidas de miles de dólares de leche, aunque científicos de Melbourne prevén una solución. Determinados tipos de virus (bacteriófagos) infectan y matan las células bacterianas. Aunque algunas especies de *Streptococcus* son resistentes a los ataques de los bacteriófagos, las cepas que mejores resultados dan en la fabricación del queso son vulnerables a los virus. Empleando técnicas de ingeniería genética o de fusión celular, dichos científicos esperan obtener bacterias híbridas eficaces en cuanto a la fermentación de la leche pero también capaces de resistir las infecciones por bacteriófagos.

El enzima degradador de proteínas tradicionalmente empleado en la fabricación del queso ha sido la renina, que se obtiene del estómago de ternera, aunque el coste y la posible escasez de renina de ternera estimularon las investigaciones acerca de otros enzimas producidos por microbios que la sustituyeran. En un plazo aproximado de quince años se ha extendido considerablemente el uso de la renina microbiana en la industria del queso. Tres especies de hongo, *Mucor pusillus* (desarrollado en el Japón), *Mucor miehei* (Estados Unidos y Dinamarca) y *Endothia parasitica* (Estados Unidos) producen reninas cuyo uso se ha aprobado en muchos países. Éste es otro de los campos propios de la biotecnología que ha tentado a los especialistas en ingeniería genética, con la esperanza de reducir los costes de tales enzimas. Dos grupos de investigadores, en el Reino Unido y en el Japón, por lo menos, han intentado la clonación del gen de la renina de ternera en bacterias y levaduras.

Otros productos lácteos (mantequillas, yogures y kéfir) se obtienen mezclando tipos específicos de microbios con leche fresca o previamente tratada. Se pueden conservar los vegetales tratándolos con bacterias que los fermentan y producen ácidos conducentes a la obtención de alimentos del tipo de la chucrut. Incluso los encurtidos domésticos dependen indirectamente de la acción de los microbios: el vinagre se obtiene cuando determinados microbios se alimentan del mosto o en infusiones de granos de cereales. Las civilizaciones del Extremo Oriente han sido mucho más atrevidas en el uso de los microbios. En el Japón, China e Indonesia algunas exquisiteces como el nato, el sufu o el tempeh kedele se preparan con mohos desarrollados sobre preparados de soja, y la siempre presente salsa de soja se obtiene con ayuda de diversos tipos de hongos, bacterias y levaduras.

MICROBIOS COMESTIBLES

Los microbios no sólo desempeñan un papel preservando, o alterando, los sabores de los alimentos, sino que los propios microbios también son comestibles. La perspectiva de vender un tipo de alimento constituido por poco más que microbios prensados y

secados no está lejos de atraer a los especialistas en comercialización. Para soslayar la repulsión generalizada —injustificada pero real— se ha acuñado el término, más amable pero menos preciso, de proteína unicelular.

Los orígenes del consumo de microbios por parte del hombre pueden rastrearse, por lo menos, hasta principios del siglo XVI. Así, en 1521, Bernal Díaz del Castillo describe cómo los habitantes de México comían pequeños pastelillos con aroma a queso que preparaban con un «légamo» extraído de los lagos. Este «légamo» era, casi con certeza, *Spirulina maxima,* un alga que todavía vive en las aguas muy alcalinas del lago Texcoco. No se sabe cuándo los aztecas descubrieron el valor nutritivo de esta alga ni tampoco desde cuándo el pueblo de los kanembu, en el Chad, a miles de kilómetros de distancia, se alimentan de un microorganismo próximo, la *Spirulina platensis* (lámina 9). Resulta notorio que el interés del hombre por los alimentos microbianos, que tiene raíces muy antiguas, ha sido objeto de concienzudas investigaciones durante los últimos veinte años.

La historia moderna de la proteína unicelular, que puede llegar a contener el 70 % de su peso en proteína, comenzó en Alemania durante la primera guerra mundial, cuando científicos y técnicos de Berlín descubrieron un procedimiento que posibilitaba cultivar las levaduras de cerveza en grandes cantidades y añadirlas a salsas y sopas como suplemento a las disminuidas disponibilidades alimenticias de la población. Estas levaduras constituyeron finalmente más de la mitad del volumen de las importaciones de alimentos del país, que estaban bloqueadas. De nuevo, durante la segunda guerra mundial, Alemania volvió sus ojos a las levaduras, y esta vez empleó especies de *Candida.* En Gran Bretaña, las levaduras de cerveza han supuesto una contribución a la dieta durante muchos años, y los excedentes de dichos microorganismos se han vendido como alimento animal o en forma de productos tales como Bovril y Marmite.

Los siguientes hitos importantes de la historia de la proteína unicelular —que desde entonces se ha llamado grandiosa tontería— ocurrieron a partir de 1960. Llevadas por una ola de entusiasmo exagerado, muchas de las mayores empresas mundiales, especialmente las de la industria del petróleo, invirtieron grandes

sumas en la producción de proteínas unicelulares. Los resultados fueron poco menos que desastrosos: millones y millones de pesetas enterrados en los proyectos, y a veces sin recuperar ni una sola.

De todos los tipos de alimentos que escasean en el mundo, la carestía más grave se da en los alimentos proteínicos de calidad. La proteína cárnica es, de ordinario, más nutritiva que la proteína vegetal, pero alimentar animales con plantas es una manera muy poco eficaz de elevar la calidad de las proteínas.

La producción de proteínas es, por descontado, razonable aunque los pasados intentos constituyeran deplorables fracasos. La razón de ello estriba en algo que resulta inconcebible en nuestros días, acostumbrado como se está al costosísimo precio del petróleo, pero el hecho es que algunas empresas decidieron que tenía un futuro económico alimentar microbios con productos químicos derivados del petróleo. Después se podrían cosechar estos microbios y destinarlos a alimento animal, o, incluso, humano.

Así, por ejemplo, la British Petroleum gastó decenas de millones de libras esterlinas en el desarrollo de una factoría en Cerdeña para fabricar Toprina, un producto de proteínas unicelulares basado en levaduras alimentadas con derivados del petróleo. En la actualidad, esta fábrica está abandonada y a la venta por un precio de saldo: diez millones de libras. El precio del petróleo se disparó, hubo dificultades políticas en Italia y la compañía no pudo convencer a las autoridades de que Toprina era seguro como alimento animal. Se le plantearon una serie de objeciones, aunque muchas de ellas las consideraron improcedentes observadores imparciales. Una de las principales está relacionada con las relativamente altas concentraciones de ácidos nucleicos (ADN y ARN) en la Toprina. Aunque toda célula del cuerpo humano contiene ácidos nucleicos —y, desde el punto de vista químico, los ácidos nucleicos humanos son virtualmente idénticos a los de los microbios—, la cuestión se planteaba sobre si la concentración de dichos ácidos en la Toprina se podía considerar segura. La proteína unicelular de levadura tiene el 10 % de ácidos nucleidos en peso, en comparación con las más reducidas proporciones de las plantas (entre el 1 y el 2 %) y el 4 % de la *Spirulina.*

La Imperial Chemical Industries ha proseguido en la producción de proteínas unicelulares. En la fábrica que posee en Billingham se cultiva la bacteria *Methylophilus methylotrophus* en metanol derivado del gas natural. La producción actual de Pruteen supera las cincuenta mil toneladas anuales, que luego se venden como alimento animal. Con este procedimiento puede surgir la competencia con la Hoechst, de la Alemania Federal, que está elaborando un producto similar, Probion, del que se han eliminado la mayoría de los ácidos nucleicos y otras sustancias, y que finalmente quizá sea aprobado como alimento humano. La Imperial Chemical Industries espera competir reduciendo los costes del Pruteen mediante una modificación, lograda por ingeniería genética, de su bacteria actual, que le permitiría aprovechar mejor el amoniaco que se añade a los tanques de fermentación para proporcionar el nitrógeno necesario para el crecimiento microbiano. La bacteria modificada genéticamente consume el 7 % menos de metanol, aunque no se utiliza todavía en operaciones comerciales.

También en Gran Bretaña, la Rank Hovis McDougall ha gastado unos treinta millones de libras esterlinas en la producción de la microproteína, también proteína unicelular, para el consumo humano. Esta empresa investiga una especie de moho *Fusarium* que contiene el 45 % de proteínas y el 13 % de grasas, combinación tan nutritiva como la de muchas carnes. Además la micoproteína contiene mucha fibra, característica que muchos especialistas en nutrición consideran cada vez más deseable. El *Fusarium* crece en una amplia variedad de fuentes de hidratos de carbono, de modo que el aporte de éstos que precisa dicho moho puede variar de acuerdo con las condiciones locales: almidón de patata o de trigo en Gran Bretaña o mandioca u otras plantas tropicales donde éstas abunden. Este producto tiene un gran valor potencial, en particular porque contiene menor cantidad de ácidos nucleicos que el máximo tolerado, así como por su equilibrada composición de aminoácidos. Muchísimas personas, de la empresa y ajenas a ella, han probado este nuevo alimento y sus reacciones han sido favorables. Prolongadas pruebas realizadas con animales han puesto de manifiesto que una dieta con micoproteína carece de efectos perniciosos. La utilización de materias primas, que son por sí mismas perfectamente comestibles, ayuda también a confiar en la seguridad del producto.

Cabría pensar que el alimento más barato sería aquel que no costara nada, pero incluso éste podría mejorarse. La lucha contra los residuos y la contaminación es un gran negocio y la biotecnología puede transformar industrias a las que se paga para eliminar algunas sustancias nocivas en industrias que también las utilizan para obtener valiosos materiales, tales como combustibles (pág. 213) o sustancias alimenticias.

A las papeleras se les plantea un grave problema: qué hacer con uno de sus productos de desecho, el licor sulfítico. Si simplemente se vierte a ríos y lagos, consume rápidamente las reservas de oxígeno del agua, con irreparables consecuencias ambientales, de las cuales la muerte de millares de peces es sólo la más patente. En Finlandia, el moho *Paecilomyces* se come el licor sulfítico, en el llamado procedimiento Pekilo, el cual no sólo purifica los líquidos residuales de las papeleras, sino que también produce una abundante cosecha de microbios, que se venden como alimento animal. Se están proyectando técnicas similares en todo el mundo para utilizar materiales de desecho de origen forestal, o en la fabricación del queso o pulpas de frutas poco apreciadas, así como otros muchos materiales de poquísimos usos, si es que tienen alguno, en la actualidad.

Como los procesos basados en el petróleo han demostrado de forma harto elocuente, el valor económico de la producción de proteínas unicelulares depende de manera decisiva de los costes de las materias primas, así como del precio de las tradicionales, como la soja o la harina de pescado. La Unión Soviética, uno de los principales productores mundiales de proteínas unicelulares, posee ya cerca de un centenar de instalaciones y espera tener suficiente proteína unicelular de levadura para subvenir a todas sus necesidades de proteínas en los alimentos animales para finales del próximo decenio.

La aceptación de las proteínas unicelulares como alimento humano no está probada todavía en buena parte. Tras probar una muestra de proteína unicelular bacteriana, un especialista en nutrición dijo: «Sí, tiene todas las características que busco en un nuevo alimento humano: es inodoro, incoloro e insípido, y, además, no tiene textura.» Esta poco lisonjera descripción significa, obviamente, que podría emplearse como base para una amplia

gama de estilos y sabores de alimentos. La idea no gustará a los partidarios de lo tradicional en alimentación, pero la cada vez mayor carencia de alimentos quizá fuerce a abandonar estas sutilezas. Cuando una forma de proteína unicelular ha superado las pertinentes pruebas de seguridad y se ha convertido en algo familiar y atractivo hay pocos motivos para pensar que los «bichos comestibles» (según un apodo atractivo y adecuado) no vayan a desempeñar un papel más importante en la mejora de la dieta mundial.

Los proyectos para la producción de proteínas unicelulares realizados en el mundo occidental, incluidos todos los antes mencionados y el sistema sueco Symba, en que se utilizan residuos de patata, requieren grandes inversiones de capital e instalaciones relativamente complicadas. Pero las mayores deficiencias de proteínas se dan en países donde tales recursos escasean. Si la producción de proteínas unicelulares cuaja en occidente, cabe que los países en vías de desarrollo se beneficien de ello, por cuanto pueden recibir mayores cantidades de alimentos procedentes de los países bien alimentados. Por su parte, los programas de producción de proteínas unicelulares liberarían a las naciones sin reservas de proteínas de los caprichos de la política y la economía internacionales.

El alga *Spirulina* ofrece excelentes perspectivas para producir, sin grandes complicaciones técnicas, proteínas unicelulares que podrían consumirse en aquellas partes del mundo (lámina 9). La producción de *Spirulina* por hectárea puede ser diez veces superior a la del trigo, en términos del peso total, y varias veces superior en cuanto al contenido en proteínas. Recoger el alga en lagos naturales o artificiales es muy sencillo, y luego puede secarse al sol y aromatizarla según las preferencias de sabor locales. Este organismo en forma de sacacorchos es fotosintético, y obtiene, por tanto, su energía de la luz del sol, que emplea para elaborar compuestos a partir del dióxido de carbono del aire. Puesto que tanto la luz como el aire son gratis, y sólo es preciso añadir algunas sustancias químicas baratas a los viveros para aumentar la productividad, la *Spirulina* posee unas características muy seductoras.

VITAMINAS Y AMINOÁCIDOS

La biotecnología contribuye también de manera importante al mejoramiento del valor alimenticio de los alimentos existentes. Muy poco se ha de destacar el valor de las vitaminas, puesto que las constantes advertencias que se efectúan permiten asegurar que muy pocas personas ignoran las graves consecuencias que acarrea su aporte insuficiente a la dieta. Seguramente sea tarea más importante contrarrestar la idea de que tomar el doble de la dosis recomendada de determinada vitamina proporciona el doble de beneficios. En realidad, en los países desarrollados, pocas personas sanas que tomen una dieta normal necesitan un suplemento de vitaminas. Este estado satisfactorio se debe, en buena medida, a que pueden acceder con facilidad a gran diversidad de alimentos ricos en vitaminas, y en ello también ha tenido parte importante el papel de la biotecnología.

La carencia de vitamina B_{12} (cobalamina), causada por desarreglos intestinales u, ocasionalmente, por una dieta inadecuada, produce anemia perniciosa. Cantidades insuficientes de vitamina B_2 (riboflavina) pueden producir úlceras de las mucosas labial y bucal, erupciones cutáneas y trastornos oculares. En la actualidad, gran parte de los aportes de ambas vitaminas, utilizadas en medicina y también como aditivos alimentarios, procede de los microorganismos. El interés que presentan estas sustancias se justifica aquí por el gran éxito obtenido por los biotecnólogos al haber obligado a ciertas especies de microbios a aumentar en grado considerable la producción de dichas vitaminas.

Las cepas silvestres del moho *Ashbya gossypii* producen sólo pequeñas cantidades de vitamina B_2, pero por selección sucesiva de cepas muy productivas y modificación de las condiciones de fermentación, la cantidad de vitamina elaborada ha aumentado veinte mil veces. De modo similar, las cepas industriales de dos tipos de bacterias, *Propionibacterium shermanii* y *Pseudomonas denitrificans*, producen más de cincuenta mil veces más vitaminas B_{12} que sus congéneres silvestres. Estos logros de los biotecnólogos han llevado a que tales microbios constituyeran la base de unos procedimientos industriales muy eficaces que aportan buena parte de los ciento cincuenta millones de dólares anuales del mercado de dichas vitaminas.

Las semillas de cereales constituyen parte fundamental, en especial durante el invierno, de la alimentación de muchos animales de gran importancia económica. Por desgracia, muchos cereales son poco ricos en dos aminoácidos: la lisina y la metionina, que todos los animales necesitan para producir sus proteínas. En consecuencia, se acostumbra añadir dichos aminoácidos al alimento de los animales para asegurarles una dieta adecuada.

En la actualidad, la metionina se obtiene por un método químico, pero la lisina elaborada mediante procesos de fermentación con bacterias aporta el 80 % de los doscientos millones de dólares del volumen de ventas de este aminoácido. La creciente demanda de alimentos para animales ha estimulado a varias empresas a invertir en la mejora de los procedimientos de obtención de mayores cantidades de lisina, al tiempo que se ensaya con métodos biotecnológicos de producción de metionina.

Se producen cada año, aproximadamente, alrededor de unas cuarenta mil toneladas de lisina, sobre todo por medio de las en extremo productoras cepas de *Corynebacterium glutamicum.* Tal como se explica en la página 24, esta bacteria carece del enzima homoserina deshidrogenasa, por lo que este defecto origina que continúe produciendo grandes cantidades de lisina, que rebasan largamente sus necesidades.

Aunque hoy se producen otros varios aminoácidos mediante procesos de fermentación microbiana, uno de ellos aventaja, en importancia económica, a todos los demás. Un rápido vistazo a las etiquetas de diversos productos alimenticios de uso común en la cocina revela la constante presencia del glutamato sódico, que se utiliza para potenciar el sabor. La industria produce actual y anualmente más de medio millón de toneladas de glutamato sódico, y su crecimiento descansa en dos bacterias: otra cepa de *Corynebacterium glutamicum,* y *Brevibacterium flavum*, organismo en forma de diminuto bastoncito.

El coste del glutamato sódico es relativamente bajo, porque los biotecnólogos han descubierto una forma muy particular e ingeniosa de extraerlo de las bacterias.

A la *Corynebacterium glutamicum,* al igual que a otras muchas

bacterias utilizadas en procesos de fermentación, se les proporciona glucosa como fuente principal de carbono.

También necesita pequeñas cantidades de la vitamina biotina, que emplea en la construcción de las membranas que rodean la célula. Si no se le da suficiente biotina, sus membranas se hacen «porosas» y algunas sustancias, entre ellas el glutamato sódico, pasan de la célula a los líquidos extracelulares, de donde pueden separarse con facilidad. Esto reduce el precio de purificación del producto, puesto que no es necesario romper las células para obtener el glutamato sódico. Además, aumenta la cantidad de glutamato sódico producido por cada bacteria debido a que reponen el que pierden.

MÁS DULCE QUE EL AZÚCAR: SUSTITUTIVOS EDULCORANTES

La enfermedad más común en Gran Bretaña es la caries dental. Casi todos los adultos tienen uno o más empastes y millones de personas han perdido su dentadura natural. El azúcar que se añade a gran variedad de manjares y bebidas es el principal responsable del desaguisado, al proporcionar alimento a miles de millones de bacterias de la boca, que con celeridad producen ácidos que corroen dientes y encías. La enorme magnitud de la industria azucarera plantea un problema importante a los biotecnólogos y en la actualidad ya se dispone de algunos sustitutivos para endulzar mediante el aprovechamiento de la pericia de los microorganismos, y algunos de tales sustitutivos ofrecen la perspectiva de reducir la caries dental.

Los químicos utilizaban la palabra azúcar para describir gran número de compuestos con determinadas características físicas y químicas, pero sólo un reducido número de los llamados azúcares tienen sabor dulce. La sacarosa, el más familiar de los azúcares dulces, se obtiene de la caña de azúcar y de la remolacha. Un compuesto similar, la fructosa, se encuentra en los frutos y la miel. La producción biotecnológica de fructosa constituye una gran industria de fuerte crecimiento, y supone una amenaza tan clara para los cultivadores de remolacha que la Comunidad Económica

Europea ha obstaculizado su utilización en la Comunidad. Aunque el consumo de fructosa no augura mejor estado de los dientes, por cuanto las bacterias productoras de ácidos que originan las caries pueden alimentarse de ella lo mismo que de sacarosa, se ha concedido gran atención a la fructosa por tres razones principales: es más dulce que la sacarosa, puede resultar más barata que ésta y además es más adecuada para los diabéticos que el azúcar corriente. Desde 1970 hasta ahora, el uso de la fructosa como edulcorante ha crecido en los Estados Unidos virtualmente desde cero hasta cerca del veinte por ciento del consumo total de edulcorantes por persona, unos cincuenta kilos por año, y antes de no mucho tiempo, la mitad del dulzor de la Coca Cola puede proporcionarlo este azúcar. Las tabletas de fructosa se pusieron fugazmente de moda en Gran Bretaña cuando se adoptaron las pruebas para determinar el alcohol en el aliento, basándose en la creencia infundada de que reducía la concentración de alcohol en sangre.

El destacable impacto logrado por la fructosa proviene, en buena parte, de los avances de la biotecnología y, en particular, de disponer de dos enzimas: la amilasa, que convierte materias primas almilíferas de poco precio en glucosa, y la glucosa isomerasa, que transforma la glucosa en fructosa. Los principios son harto conocidos: se aprovecha el impresionante poder catalítico de los enzimas para obtener una forma económica y eficaz de convertir una materia prima de escaso valor (almidón) en otra sustancia de gran valor (fructosa). Hay un aspecto de este procedimento que merece especial atención, puesto que tiene considerable importancia en muy diversos campos de la biotecnología: la fijación de los enzimas.

Desde que, en 1928, James Sumner fue la primera persona que obtuvo cristales puros de un enzima, la ureasa, ha crecido de manera desmesurada la habilidad de los científicos para aislar enzimas específicos. A pesar de ello, continúan siendo, en general, sustancias más bien caras, y así, para cualquier procedimiento comercial en que intervengan enzimas, es fundamental poder utilizarlos de la manera más eficaz posible. Una de las características de los enzimas es que pueden desempeñar la misma función una y otra vez y, salvo algún contratiempo accidental, una molécula de glucosa isomerasa continuará convirtiendo infatigablemente una

molécula tras otra de glucosa en fructosa. Cuando se ha convertido toda la glucosa en fructosa, el enzima no tiene nada más que hacer y no se aprovecha su facultad, que no ha disminuido en absoluto. Puesto que el enzima y la fructosa se hallan disueltos en la misma mezcla final, resulta muy difícil y costoso extraer el enzima para poder utilizarlo con más glucosa.

Hoy se puede evitar este despilfarro del caro enzima mediante el sencillo procedimiento de fijar las moléculas de enzima en una superficie sólida. Una vez realizada su función, se retira la fructosa por lavado y los enzimas fijados en su soporte están nuevamente dispuestos para nueva introducción de glucosa. En los últimos diez años se ha investigado acerca de la teoría y la aplicación práctica de los enzimas fijados y hoy se han fijado con éxito muchos tipos diferentes de enzimas en una amplia variedad de soportes sólidos, entre ellos lechos de vidrio, plásticos y fibras naturales como la celulosa. En la figura 6-2 se ilustran tres de los principales métodos empleados en la fijación de enzimas.

En los primeros experimentos, a menudo se destruía la actividad del enzima durante la fijación. En la actualidad, las técnicas han alcanzado tal grado de perfeccionamiento, que virtualmente ningún enzima se estropea cuando se fija al soporte. Estos avances, asociados con la expectativa de que será posible, finalmente, fijar cualquier enzima, garantizan un lugar cada vez más importante a los enzimas fijados en la biotecnología del futuro. Hoy, unos cincuenta enzimas microbianos tienen importancia industrial, aunque se han registrado patentes para utilización comercial de más de mil enzimas. Existen algunas y variadas razones que hacen que la mayoría de este gran número de posibles aplicaciones no se hayan recibido con alegría. El elevado coste de los enzimas es, ciertamente, un factor fundamental en muchos casos, pero el procedimiento de fijación de enzimas está transformando muchos procesos industriales. La reutilización de un conjunto único de enzimas puede lograr que un procedimiento biotecnológico antes antieconómico tenga ahora grandes posibilidades. Esto es lo que ha sucedido con la producción de fructosa, del aditivo alimentario ácido málico o de diversos aminoácidos.

Aunque la producción de fructosa es la contribución más importante de la biotecnología a la industria azucarera actual, cabe

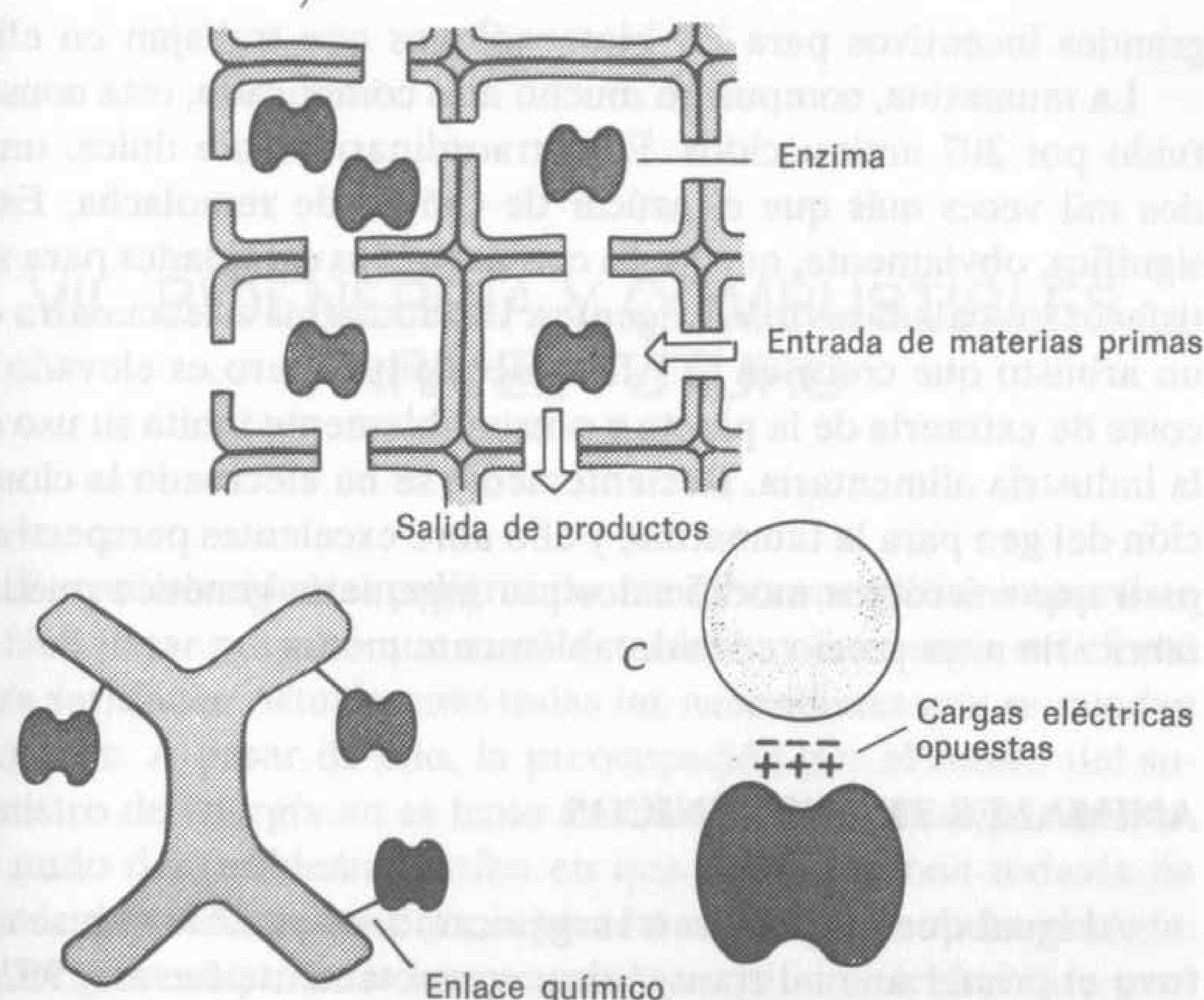


Fig. 6-2. Algunos métodos para fijar enzimas. (A) Atrapamiento en una celosía sólida construida de plástico u otros materiales. Las ventanitas de la celosía permiten la aproximación de las materias primas a los enzimas y la salida de los productos resultantes. (B) Enlace químico de un enzima a un soporte, como, por ejemplo, fibras de celulosa. (C) Fijación electrostática al soporte, del tipo de cuentas de vidrio. Las cargas eléctricas opuestas del enzima y del soporte los mantienen unidos.

que en los próximos años tengan creciente importancia, al menos, otros dos tipos de edulcorantes: el aspartamo, compuesto sintético recientemente autorizado en los Estados Unidos y Gran Bretaña para su uso como edulcorante bajo en calorías, y la taumatina, que se está estudiando a fondo.

El aspartamo, compuesto bastante sencillo, está formado por dos aminoácidos unidos: el ácido aspártico y la fenilalanina. Se pueden producir ambos constituyentes por microorganismos y es probable que el propio aspartamo se pueda obtener pronto mediante un proceso de fermentación microbiana. Su mercado potencial en los Estados Unidos se calcula en unos cuatro millones de dólares y experimenta fuerte expansión, por lo que existen

grandes incentivos para los biotecnólogos que trabajan en ello.

La taumatina, compuesto mucho más complicado, está constituido por 207 aminoácidos. Es extraordinariamente dulce: unas dos mil veces más que el azúcar de caña o de remolacha. Esto significa, obviamente, que basta con pequeñas cantidades para satisfacer los paladares más exigentes. La taumatina se encuentra en un arbusto que crece en el África occidental, pero es elevado el coste de extraerla de la planta y presumiblemente limita su uso en la industria alimentaria. Recientemente se ha efectuado la clonación del gen para la taumatina, y ello abre excelentes perspectivas para que microbios modificados por ingeniería genética puedan fabricarla a un precio considerablemente menor.

ANIMALES TRANSGÉNICOS

Al igual que las plantas transgénicas, hace ya años que se obtuvo el primer animal transgénico: concretamente fue en 1982, y se trataba de un ratón al que se le había introducido el gen de la hormona del crecimiento de la rata. Y en 1988 se marcó otro hito en la historia de este tipo de animales: la empresa Genentech patentó en EE.UU. una estirpe de ratón cuyas células llevaban insertado un gen humano cancerígeno, y que iba a ser muy útil en la investigación de esta enfermedad.

A diferencia de lo que ocurre en las plantas, las únicas células animales a partir de las que puede desarrollarse un organismo entero son los óvulos fecundados. Así pues, la técnica empleada suele ser la microinyección in vitro en óvulos fecundados del ADN que se desea integrar en el genoma del animal, y la posterior implantación de los mismos en el útero de una hembra. Esta técnica se ha puesto a punto ya para especies de tanto interés económico como la vaca, la oveja, el caballo, el cerdo o el conejo. La posibilidad de utilizar la leche de vaca para producir proteínas de interés terapéutico, la modificación del contenido en grasa del cerdo o incluso la modificación del sistema inmunitario de especies de mamíferos para que puedan ser utilizados sus órganos en trasplantes humanos son posibilidades en las que se trabaja con muchas posibilidades de éxito.

VII. BIOENERGÍA Y COMBUSTIBLES PARA EL FUTURO

Entre los evidentes peligros de una crisis energética imprevista es fácil pasar por alto que en el entorno hay la energía suficiente para satisfacer virtualmente todas las necesidades que se puedan imaginar. A pesar de ello, la preocupación por el futuro del suministro de energía no es fruto de unas pocas mentes pesimistas. El nudo del problema estriba en que no se dispone todavía de las técnicas adecuadas para captar buena parte de dicha energía.

La gran mayoría de los recursos energéticos del hombre provienen, en último término, del Sol, incluidos la madera, el carbón, el petróleo, el gas natural e incluso el viento y la energía hidroeléctrica. Se pueden obtener inmensas cantidades de energía a partir de este origen: la energía de un día de sol equivale, aproximadamente, a una quinta parte de todas las reservas de combustibles fósiles. Para detener la pérdida de tal energía se impone ingeniar maneras de convertir este extraordinario aporte en formas de energía adecuadas para su transporte, almacenamiento y consumo. Usualmente, eso quiere decir producir combustibles líquidos, sólidos o gaseosos que se puedan utilizar directamente o convertidos, a su vez, en otra forma de energía, la electricidad, por ejemplo. En la actualidad se reconoce que se debe proceder a cortar la dependencia de los combustibles fósiles, como el petróleo, el carbón y el gas natural, y levantar una economía energética más estable basada en combustibles renovables y menos contaminantes. Aquí tienen su papel los biotecnólogos, ya que se pueden aprovechar las facultades de los microorganismos o las plantas para producir precisamente este tipo de combustibles. Algunas biotecnologías energéticas, como la producción de alcohol para combustible y gas metano, ya suponen una contribución importante al presu-

puesto energético, mientras que otras, como la producción de hidrógeno gaseoso, todavía no viables en escala industrial, son realmente muy prometedoras.

ALCOHOL Y ENERGÍA A PARTIR DE AZÚCAR

Millones de pequeñas células de levadura, miles de hectáreas de caña de azúcar y más de un cuarto de millón de automovilistas brasileños están relacionados por una de las más desarrolladas biotecnologías actuales: la producción de alcohol para combustible. En lugar de llenar sus depósitos con gasolina, automovilistas de todo el Brasil suministran a sus coches otro combustible, el alcohol obtenido de la caña de azúcar. No es muy crecido el importe de modificar un motor corriente de gasolina de manera que pueda quemar alcohol con eficacia, y puesto que el alcohol para combustible se vende a poco más de la mitad del precio de la gasolina, es grande el incentivo que tiene para los brasileños hacer dicha modificación. Además, algunos de los beneficios económicos del alcohol para combustible pueden obtenerse sin necesidad de transformación alguna, puesto que puede utilizarse una mezcla de gasolina y alcohol, conocida con el nombre de gasohol (lámina 12).

Muchos países siguen actualmente el ejemplo de Brasil. Ambiciosos proyectos para sustituir la gasolina por alcohol están en estudio en los Estados Unidos y en la Comunidad Económica Europea e instalaciones de alcohol para combustible existen en países tan diversos como Zambia, Filipinas, Zimbabwe, Nicaragua y Paraguay. El gasohol, compuesto por un 90 % de gasolina y un 10 % de alcohol, está actualmente muy extendido en los Estados Unidos. Pone de manifiesto el alcance de esta tecnología el objetivo declarado del Congreso de los Estados Unidos que espera que una décima parte del total de la gasolina consumida en el país se sustituya por alcohol antes de 1990. Esto significa producir más de cincuenta mil millones de litros de alcohol por año. Si estos arriesgados proyectos se hacen realidad y se producen enormes cantidades de alcohol a un coste razonable será, en buena medida, gracias a los esfuerzos de los biotecnólogos.

Hay tres líneas entrelazadas de investigación en este tema. En primer lugar, se están investigando detalladamente las reacciones químicas con que las levaduras fermentan el azúcar hasta convertirlo en alcohol. En segundo lugar, la búsqueda de materias primas baratas y abundantes que puedan sustituir o complementar las que actualmente se utilizan en las factorías de alcohol para combustible; en tercer lugar, se estudia también cómo encontrar las mejores condiciones de fermentación que permitan obtener la máxima cantidad posible de alcohol a partir de las materias primas utilizadas.

¿Cómo y por qué fabrican alcohol las levaduras?

Hay un aspecto fundamental de las células que sólo se ha tocado de pasada en este libro: su actividad de convertidores energéticos. Ningún procedimiento industrial es tan adaptable y eficaz como una célula viva en su facultad de extraer energía a partir de los materiales disponibles y transformarla en una forma utilizable. Pero, ¿de qué le sirve la energía a la célula?

Casi toda actividad de la célula requiere energía: energía para moverse, energía para sintetizar compuestos, energía para crecer. Algunas partes del metabolismo celular se dedican principalmente a la producción de los compuestos que la célula necesita, mientras que otras partes rompen las moléculas de alimento para suministrar la energía que requiere la producción en curso. Aunque los nutrientes que llegan a la célula contienen gran cantidad de energía, no puede utilizarla directamente sino que primero tiene que extraerla de los nutrientes y almacenarla en unos pocos compuestos ricos en energía, entre los cuales destaca el ATP (adenosín trifosfato).

Cabe considerar el ATP como la moneda energética de la célula. La energía entra en la célula en gran variedad de formas (nutrientes) y el metabolismo energético celular actúa como una oficina de cambio al convertir la moneda extranjera en moneda local (principalmente ATP). Como es natural, hay que pagar una comisión por ello: algo de energía se pierde siempre en esta conversión. En este momento ya puede depositarse la moneda local y

posteriormente gastarla en cualquier cosa que la célula quiera comprar (hacer) en función de sus necesidades.

Por tanto, tiene primordial importancia para la célula de levadura mantener sus reservas de ATP, y puede hacerlo consumiendo azúcares. Entre los azúcares mejor conocidos están la glucosa y la fructosa. Las moléculas de estos dos azúcares se encuentran en concentraciones relativamente elevadas en los frutos, pero en las células, de ordinario, están combinados con otras moléculas para formar materiales más complejos. Los azúcares tienen la importantísima propiedad de poder agruparse en cadenas. Por ejemplo, la sacarosa está constituida por una sola molécula de glucosa unida a otra de fructosa. La sacarosa, principal componente del jugo de la caña de azúcar, se hace cristalizar para obtener el azúcar doméstico. El primer paso que realizan las levaduras para obtener la energía a partir de la sacarosa consiste en separar las unidades de glucosa y fructosa. Luego las introduce en la maquinaria del metabolismo energético para obtener la energía que la célula necesita. Si la célula de levadura dispone de buen aporte de oxígeno, estos azúcares son reducidos, paso a paso, a moléculas cada vez más pequeñas en un proceso que extrae el máximo posible de energía de los azúcares y que produce finalmente sólo dióxido de carbono y agua, que se eliminan. Pero si la levadura no dispone de oxígeno o hay poca cantidad, no puede completarse la serie de degradaciones químicas y los azúcares son degradados hasta formar moléculas de etanol. El etanol es el más corriente entre los diversos tipos de alcohol; por ello a menudo se le denomina simplemente alcohol, o, aquí, alcohol combustible.

Puesto que el alcohol es el producto deseado, los biotecnólogos, al igual que los cerveceros de la época clásica, concentran sus esfuerzos en obligar las levaduras a producir tanto como sea posible. Es importante notar que, por lo que respecta a las levaduras, el alcohol es un producto de desecho: se acumula, sencillamente, porque no se dispone de suficiente oxígeno para que la célula pueda liberar la energía que contiene. En realidad, el alcohol no es algo simplemente inútil para la levadura, sino francamente perjudicial. Cuando la concentración de alcohol en las proximidades de la levadura alcanza determinado valor, por lo general entre el 12 y el 15 %, las células dejan de crecer o incluso mueren.

Este hecho tiene importantes consecuencias para las factorías de alcohol como combustible. Una proporción considerable del coste total de producción se deriva de la necesidad de retirar el alcohol de la mezcla de materiales del tanque de fermentación. Normalmente se calienta para ello la mezcla hasta que el alcohol hierve y se condensan los vapores, que constituyen alcohol bastante puro. El proceso de destilación requiere gran cantidad de calor. Si la mezcla de fermentación contuviera el 24 % de alcohol en lugar del 12 %, los costes de destilación podrían reducirse considerablemente.

Se sabe más sobre la bioquímica y la genética de las levaduras que sobre cualquier otro microorganismo, a excepción de la *E. coli.* A pesar de ello se sabe poco acerca de los extraños hechos que explicarían por qué algunas levaduras toleran más el alcohol que otras, lo cual dificulta el establecimiento de un plan razonable de búsqueda de las cepas más tolerantes. Una hipótesis sobre ello es considerar que las cepas más tolerantes tienen un tipo de membrana ligeramente distinto. Las membranas que protegen a las células contienen grandes cantidades de lípidos o compuestos grasos. Proporcionando a las levaduras distintos lípidos pudiera ser que los utilizaran para elaborar su membrana y les dieran mayor resistencia al alcohol. Incluso en el caso de que la suposición no fuera cierta, esta manera corriente de investigar por tanteo permitiría quizá descubrir las levaduras mejor dotadas y más adecuadas para la producción de alcohol.

Dado que los biotecnólogos no deben preocuparse por el sabor del alcohol destinado a combustible, pueden utilizar más amplia gama de materias primas y de microbios para producirlo que los que se emplean para fabricar alcohol para preparar bebidas. Frente a tales ventajas debe tenerse en cuenta el hecho fundamental de que el alcohol destinado a combustible debe ser barato, ya que cualquier biotecnología sólo será rentable comercialmente si puede competir en precio con los demás métodos de fabricación del mismo producto. La producción biotecnológica de alcohol como combustible es un ejemplo de competencia de precios en su más descarnada expresión: no sólo debe competir con otros tipos de combustible sino que también tiene que hacerlo con el alcohol fabricado por procesos químicos, lo cual constituye una industria bien establecida.

Recorte de los precios de las materias primas

El Programa Nacional del Alcohol de Brasil produce anualmente más de cuatro mil millones de litros de alcohol al año, principalmente a partir de la pulpa de la caña de azúcar, mientras que en los Estados Unidos el material más utilizado es el maíz. Ambos cultivos presentan la desventaja de que tienen un valor relativamente alto para el consumo humano animal, de tal manera que su precio en los mercados mundiales fluctúa con rapidez y de manera imprevisible según la producción anual. En consecuencia, resulta difícil predecir en un momento dado si una inversión en una fábrica de alcohol como combustible, basada en estas materias primas, será rentable. En la actualidad se dedican considerables esfuerzos a la búsqueda de soluciones de coste menor y más estable.

Hoy se consideran minuciosamente diversas plantas, entre ellas la mandioca —raíz que se puede cultivar en suelos pobres, en el trópico—, la patata, árboles y gramíneas. Actualmente ninguna es tan activa como la caña de azúcar, porque no contiene cantidades importantes de azúcares que puedan consumir las levaduras (véase la página 205). Sin embargo, esto no constituye un problema insuperable. Como todas las plantas, éstas son ricas en polisacáridos, y las moléculas de polisacárido están constituidas por muchas moléculas de azúcar juntas. Desmenuzándolas en sus unidades, cabe que constituyan un excelente alimento para las levaduras, que pueden convertirlas en alcohol.

Dos tipos de polisacáridos tienen un especial interés: la celulosa y el almidón. Las moléculas de celulosa están compuestas por la agregación de unos cientos a varios miles de moléculas de glucosa unidas formando cadenas lineales. Las moléculas de almidón también están integradas por unidades de glucosa, pero en menor cantidad y, además, en forma de cadenas ramificadas. Muchas plantas almacenan grandes cantidades de almidón y, por su parte, la celulosa es el principal componente de todos los vegetales a los que proporciona la solidez de las membranas que protegen las células. Se ha calculado que los cultivos de cereales y de raíces producen anualmente y en todo el mundo más de mil millones de toneladas anuales de almidón, mientras que las cifras de celulosa son mucho mayores: se trata de la materia orgánica más abundante en la Tierra.

Muchas factorías de alcohol combustible utilizan el almidón como materia prima, particularmente en los Estados Unidos, donde pronto se producirán de esta forma más de dos mil millones de litros de alcohol a partir del maíz. Los tratamientos previos de las plantas para obtener el azúcar constan de cierto número de procesos químicos y físicos. Un preliminar importante es el malteado húmedo, con que extrae el almidón del maíz. Buena parte de este libro se ha dedicado a ensalzar la propiedad de los enzimas, para dirigir todo tipo de reacciones químicas, por lo que no será una sorpresa a estas alturas encontrar enzimas que intervienen en la producción de azúcar a partir del almidón. La mayor parte de las levaduras no pueden, pero otros organismos lo realizan.

Las plantas utilizan el almidón como una manera de almacenar energía y cuando la necesitan movilizan sus reservas echando mano de las amilasas, enzimas que rompen las moléculas de almidón y liberan los azúcares. Las amilasas se cuentan entre los más eficaces enzimas conocidos: cada molécula puede participar en más de mil reacciones químicas de separación por segundo. Las amilasas pueden extraerse de determinadas especies de bacterias y añadirlas directamente a la materia prima amilácea, en la cual originan las necesarias transformaciones de manera muy eficaz. Sin duda, se podrá mejorar este proceso cuando se haya generalizado el uso de los enzimas fijados.

El microbio ideal sería aquel que tuviera amilasas y la propiedad de producir alcohol. En realidad, algunas levaduras ya poseen amilasas, aunque, por desgracia, producen poco alcohol. Hay dos vías posibles de soslayar el problema: ampliar el número de microorganismos apropiados para la industria del alcohol destinado a combustible y utilizar la ingeniería genética para obtener una levadura que pueda hacer estas funciones. Esta última posibilidad habría parecido bastante inimaginable pocos años atrás, pero ahora parece muy factible. El gen que instruye las bacterias sobre cómo fabricar amilasa no es complicado, por lo que no hay motivo aparente para que no pueda sacarse de una bacteria e inserirlo en células de levadura, donde empezaría a producir amilasa. Si se introdujera el gen en aquellas cepas de levadura más productivas, el resultado podrían ser enormes cantidades de alcohol obtenido a partir de almidón, sin caros tratamientos previos.

Las modernas técnicas de la ingeniería genética ofrecen una perspectiva todavía más atractiva: levaduras que pueden comer celulosa. La mayor parte de las personas están familiarizadas con la propiedad de algunos hongos para atacar la madera. La podredumbre seca de la madera, por ejemplo, la causa un hongo que elabora celulasas, enzimas que descomponen la celulosa de las paredes celulares de la madera y producen glucosa en el proceso. Una variedad de hongos de extraño nombre, entre ellos el *Trichoderma reesei*, el *Coriolus hirsuitus* y el *Polyporus anceps*, pueden realizar este sorprendente proceso. La introducción de genes celulasa en levaduras devengaría enormes dividendos, ya que entonces la industria del alcohol como combustible podría aprovechar inmensas cantidades de materias vegetales que actualmente no se utilizan. Esto tiene gran importancia, puesto que la mayoría de las plantas que contienen almidón (como la patata, la mandioca o el maíz) son necesarias para la alimentación humana o la animal. Una industria de alcohol destinado a combustible basada en la celulosa podría utilizar, en principio, cualquier materia vegetal —árboles, hierba, paja, matojos— así como residuos industriales, tales como los de las papeleras.

Pero surge el inconveniente de que la celulosa en las plantas leñosas está íntimamente asociada con la lignina, compuesto de extraordinaria resistencia a la degradación. Algunos hongos, sin embargo, atacan la lignina, y cuando se sepa más acerca del modo cómo consiguen esta proeza será quizá posible producir levaduras que puedan hacerlo tan bien como ellas. En el ínterin, los biotecnólogos están efectuando un procedimiento en dos fases: se utilizan hongos para romper las moléculas de celulosa y lignina para liberar azúcares, que luego se utilizan para alimentar levaduras, con el fin de que las fermenten hasta alcohol. Se están llevando a cabo estudios en diversos países, en especial en Suecia y los Estados Unidos, que, según parece, auguran un gran futuro a este método.

Las perspectivas de aumentar la eficacia de los sistemas de producción de alcohol como combustible no dependen exclusivamente de la ampliación de la gama de las materias primas utilizadas. Interesa igualmente aumentar la velocidad y la eficacia con que determinada cantidad de azúcar queda convertida en alcohol

y esto proporciona un excelente ejemplo acerca de la manera en que muchos años de cuidadosa investigación pura pueden resultar de utilidad y ofrecer inesperados beneficios prácticos.

Las levaduras pueden extraer la energía contenida en los azúcares con ayuda de oxígeno (metabolismo respiratorio) o sin él (metabolismo fermentativo). Puesto que sólo el último produce alcohol, es obvio que, en este caso, el interés se concentre en favorecer la fermentación por encima de la respiración. El metabolismo respiratorio más eficaz (desde el punto de vista de la levadura) ocurre en el interior de unas estructuras celulares en forma de salchichas: las mitocondrias. Aunque casi todo el ADN de las células eucariotas se encuentra en el núcleo, una pequeña parte se halla en las mitocondrias. El ADN mitocondrial contiene las instrucciones necesarias para producir algunas de las proteínas que intervienen en la respiración. Determinadas cepas mutantes de levaduras carecen de mitocondrias y, por tanto, se ven forzadas a basarse en la fermentación para obtener sus requerimientos energéticos. Puesto que ello es menos eficaz, estos mutantes crecen más despacio, y forman sólo colonias pequeñas, de donde el nombre que se les ha asignado de mutante *petite*. Comparando las células de las levaduras *petite* con las de las cepas normales, ha sido posible obtener muchos datos acerca de la disposición de los genes y de su modo de actuar. Tales estudios, realizados entre 1951 y 1969, han preparado el camino a las modernas técnicas de la ingeniería genética.

La importancia de todo ello para la producción de alcohol como combustible es que las levaduras *petite* producen más del doble de alcohol que sus congéneres normales. Por ejemplo, una cepa de levadura corriente, denominada IZ-1904, produce sólo el 41 % del teóricamente máximo posible de alcohol a partir de un peso dado de glucosa, mientras que la forma *petite* de dicha levadura produce el 83 %. Investigadores del Brasil y de otras partes del mundo están intentando la introducción de las levaduras *petite* en los procedimientos de producción de alcohol destinado a combustible en gran escala, con el fin de igualar las elevadas tasas de conversión que actualmente se consiguen mediante complejos procesos de fermentación que emplean otros tipos de levaduras.

Sustitutivos de las levaduras

La producción de bebidas alcohólicas en occidente se basa casi por completo en las levaduras, pero en otras partes del mundo se utilizan desde hace siglos otras clases de microorganismos para fermentar azúcar y convertirlo en alcohol. Uno de tales organismos, la *Zymomonas mobilis*, ha llamado particularmente la atención. Esta bacteria se emplea desde hace mucho tiempo en Centroamérica para fermentar el jugo de la pita para producir una bebida fuerte, que se conoce como pulque. Parece que dicho organismo fermenta el azúcar de un modo más eficaz que las levaduras y en la actualidad se están investigando sus características. Las células cilíndricas de la *Zymomonas mobilis* pueden fijarse en fibras de algodón (lámina 13), y estas células fijadas ofrecen muchas ventajas sobre las células flotantes libres; en particular los sistemas en que emplean células fijadas pueden funcionar durante días, semanas incluso, sin necesidad de detener la fermentación para añadir células de refresco. Tales procesos de fermentación continua tendrán, casi con toda seguridad, gran repercusión en la producción del alcohol destinado a combustible del futuro, en la medida en que reducirán mucho los costes.

Tanto el Department of Energy's Fuels from Biomass de los Estados Unidos como el Programa de Energía a partir de la Biomasa de la Comunidad Económica Europea se basan en la investigación de sustitutivos de las levaduras. Por ello se concede gran atención a dos especies de bacterias: la *Clostridium thermocellum*, que se alimenta de celulosa, y la *Thermoanaerobacter ethanolicus*, que consume almidón y azúcares. Sus nombres ya son un indicio de su posible importancia, ya que ambas son bacterias termófilas (les gusta el calor). Es probable que se reduzca el coste total de cualquier procedimiento industrial si aumenta la velocidad del de transformación de las materias primas en producto final, mientras que la velocidad de cualquier reacción química crece con la temperatura. Cuando se trata con complejas y delicadas células vivas no procede calentar sin más en espera de acelerar su actividad. Las levaduras son el fruto de una evolución para vivir a temperaturas moderadas y no se activan con más calor; al contrario, mueren. Sin embargo, la *Clostridium thermocellum* y la *Thermoanaerobacter ethanolicus* tienen un estilo de vida diferente. La última es muy resistente al calor y se encuentra normalmente en los manantiales hidrotermales del Yellowstone National Park, de los Estados Unidos, y en los de Islandia, donde prospera en aguas próximas a ebullición.

Cabe que el uso de estas bacterias que toleran el calor proporcione cuatro tipos de posibles beneficios a la producción biotecnológica de alcohol como combustible. En primer lugar, podría convertir las materias primas (almidón, azúcares o celulosa) en alcohol de manera más rápida que las levaduras; en segundo lugar, no necesitaría de los complejos sistemas de refrigeración de los aparatos de fermentación (en la actualidad, deben refrigerarse los tanques de fermentación para evitar que el calor producido durante la fermentación dañe las levaduras); en tercer lugar, porque los tanques de fermentación que trabajan a temperaturas relativamente elevadas se contaminan con menos facilidad con organismos indeseados, debido a que de los otros organismos muy pocos pueden soportar el calor; y, finalmente, porque al estar ya caliente el líquido de fermentación se requeriría menor aporte de calor para destilar el alcohol, y el coste de la destilación es factor importante de los costes de producción.

METANO, COMBUSTIBLE A PARTIR DE DESECHOS

El primer contacto que tuvo el hombre con los gases inflamables fue, muy probablemente, con las débiles lucecitas que salían de los pantanos. Produce estas sutiles emanaciones luminosas, denominadas fuegos fatuos, el gas de los pantanos, que se quema en contacto con la atmósfera cuando sale del suelo. Tres mil años atrás, el antiguo libro chino *I Ching* se refiere a estos fuegos de los pantanos y se cree que los habitantes de la región de Sechuán ya utilizaban en aquel tiempo el gas de los pantanos como combustible. El principal componente del gas de los pantanos es el metano, que en los últimos años ha pasado a ocupar un lugar muy importante en la vida diaria del hombre, especialmente como constitutivo del gas natural que se extrae del mar del Norte y de otros lugares del planeta. Durante millones de años, la actividad

de diversos tipos de microbios ha descompuesto las células muertas de animales y plantas y producido estas grandes reservas de metano.

Para el hombre, la dependencia de los microbios que producen metano tiene otra forma más directa y sorprendente: sin ellos, podría quedar enormemente reducido el aprovisionamiento de carne. El alimento principal del ganado vacuno es la hierba, cuyas células están rodeadas de gruesas membranas de celulosa. Ni el hombre ni las vacas pueden digerir la celulosa, pero las vacas pueden vivir con una dieta de hierba porque su estómago está poblado por muchos tipos de bacterias, entre ellas algunas capaces de romper la celulosa y producir metano, y liberar así el contenido de las células vegetales, que la vaca puede digerirlos.

En la actualidad, los biotecnólogos estudian las bacterias que producen metano (denominadas metanógenas) para tratar de averiguar de qué modo pueden proporcionar el metano destinado a combustible. El objetivo genérico de estos estudios consiste, tal como lo han resumido algunos investigadores californianos, en «la producción de metano a partir de materias vegetales sin el aparato de fermentación actualmente necesario (la vaca)».

Como ya se ha dicho anteriormente, una de las claves del éxito comercial de cualquier biotecnología es la utilización de materias primas fácilmente disponibles y baratas. Las materias primas fundamentales para la producción de metano son, a menudo, demasiado abundantes: las aguas residuales de granjas e industrias.

Mientras que en todos los tipos de biotecnologías antes consideradas se emplean sólo pocos tipos de microbios, y con frecuencia únicamente una especie, en los sistemas de producción de metano, por el contrario, se usan muchos tipos distintos de microorganismos. Esto no debe sorprender, puesto que las materias primas utilizadas en el proceso son, de ordinario, mezclas complejas de materiales y es improbable que una sola especie pueda degradar toda la gama de compuestos distintos. De modo que los generadores de metano eficaces conllevan una compleja interacción entre muchos tipos de microbios, en que cada uno desempeña un importante papel.

En las instalaciones más simples, que a menudo no son poco más que un hoyo en el suelo, utilizan mezclas de materias primas

tales como residuos domésticos y agrícolas. Estas instalaciones se suelen denominar digestores y su producto se conoce con el nombre de biogás. Se recurre a este término más bien vago porque la composición del gas varía, aunque siempre el metano constituye la parte principal.

La variedad de materias primas y de productos, así como la diversidad de los microbios empleados, plantean algunos problemas a los biotecnólogos. No se sabe exactamente cómo trabajan los sistemas que generan metano. Para poder proyectar procedimientos que funcionen con mayor eficacia, los biotecnólogos deberían llegar a conocer a fondo qué tipo de organismo realiza cada reacción química y de qué forma se relacionan todas. Enfrentados con una masa heterogénea de composición mal definida, la tarea no es sencilla. A pesar de tales dificultades, se están obteniendo muchos datos al respecto, que pueden contribuir a idear generadores de metano más eficaces.

Mientras tanto, se instalan muchísimos digestores sencillos en todo el mundo. La República Popular China posee, según se cree, cinco millones de instalaciones sencillas en las zonas rurales, y el ambicioso Plan Gobar (del nombre indostánico para el estiércol de vaca) del Gobierno Indio tiene instalados digestores en decenas de miles de aldeas que proporcionan útil energía de poco precio. Este tipo de biotecnología es probablemente más adecuada para operaciones en pequeña escala, en que las materias primas proceden de la propia localidad y la energía resultante se distribuye en la misma zona. En este sentido se pueden soslayar los altos costes del transporte, que pueden resultar prohibitivos para los sistemas generadores de metano en gran escala. Puesto que tales digestores son, en realidad, construcciones muy sencillas, se puede evitar la mayor parte de las dificultades inherentes a las altas tecnologías, lo que permite introducir esta nueva fuente de energía con mínimo gasto y poquísimas dificultades.

También funcionan, especialmente en los Estados Unidos, otras plantas experimentales de producción de metano más perfeccionadas. La mayoría de ellas se basan en un procedimiento en dos fases, que comporta la utilización de algas y bacterias. Las materias primas (también aquí aguas residuales preponderantemente) se aprovechan para alimentar algas en sencillos tanques donde

se introducen. Luego, de vez en cuando se recogen estas algas y se introducen en un digestor, donde las consumen diversas bacterias que producen metano. Estos sistemas en dos fases tienen la especial ventaja de que el cultivo de algas absorbe energía solar en su fotosíntesis, con lo que se obtiene mayor biomasa que si los organismos productores de gas consumieran directamente las materias primas. Uno de los principales inconvenientes de estos métodos es la gran cantidad de agua que, de ordinario, requieren, puesto que en aquellos lugares en que abunda el sol puede escasear el agua. Por fortuna, algunas algas se desarrollan bien en aguas salobres, de la que habitualmente se dispone en mayor cantidad. Una de estas algas es *Spirulina*, cuyas células espiraladas se apelmazan y con ello facilitan la recolección.

Parece que virtualmente cualquier tipo de materia vegetal puede utilizarse para cebar los digestores de producción de metano, lo cual ha impulsado el análisis de muy diversos métodos de obtención. Algunos dan la impresión de ser pura fantasía, pero quizás un día resulten factibles. Se ha propuesto, por ejemplo, cultivar algas gigantes en descomunales parrillas flotantes en los océanos. La velocidad de crecimiento de las algas puede ser extraordinaria: hasta 14 cm diarios. Obviamente, esto plantearía problemas prácticos, entre ellos los daños causados por las tempestades, la recolección de las algas y la producción del metano en el mar o el transporte de las algas hasta tierra firme. Es improbable que este método pueda llegar a ser realidad, pero proporciona una buena muestra de la ambiciosa naturaleza de los proyectos que se están investigando en este campo de la biotecnología.

HIDRÓGENO, ¿EL PERFECTO COMBUSTIBLE RENOVABLE?

El interés que ha suscitado la investigación biotecnológica acerca de la producción de hidrógeno no debe sorprender, ya que ofrece la posibilidad de disponer de un combustible que podría producirse a partir de una fuente de energía que durará millones de años (el Sol) y una materia prima que cubre las tres quintas partes de la Tierra (el agua). Además, el hidrógeno no contamina

cuando se quema, sino que forma agua, que viene a reponer su materia prima.

La opinión popular acerca del hidrógeno continúa marcada por la memoria de la explosión del dirigible *Hindenburg*, aunque, en realidad, el hidrógeno es poco más peligroso que muchos de los combustibles utilizados en el hogar. El precio, más que la seguridad, es, fundamentalmente, lo que impide que el hidrógeno sea un combustible de uso común. Si los trabajos de los biotecnólogos dieran fruto, la situación podría cambiar en un plazo de pocos años.

Casi todas las sustancias internas de las células contienen átomos de hidrógeno y gran número de reacciones químicas vitales para la célula suponen la transferencia de hidrógeno de un compuesto a otro. A pesar de ello, sólo pocos organismos producen el hidrógeno en forma de gas (liberado al exterior de la célula). El hidrógeno gaseoso está compuesto por dos átomos de hidrógeno unidos (H_2). La mayor parte del hidrógeno celular está asociado a otros átomos para formar muy diversos compuestos o bien existe en forma de iones hidrógeno (H^+, átomos de hidrógeno que carecen de electrones). Algunos microorganismos poseen enzimas que pueden tomar dos iones hidrógeno y dos electrones y juntarlos para formar una molécula de hidrógeno gaseoso, y tales microbios han captado la atención de muchos biotecnólogos.

La hidrogenasa es el enzima responsable de este enigmático método de producir hidrógeno gaseoso y hasta el presente se ha obtenido de unas quince especies distintas, entre las que se cuentan bacterias y algunas algas. Los intentos de utilizar comercialmente tales organismos se hallan todavía en fase muy temprana, aunque existe considerable optimismo acerca de las perspectivas de éxito. Los experimentos realizados en el laboratorio muestran que el hidrógeno se produce cuando dichas bacterias, por ejemplo la *Clostridium butyricum*, disponen de azúcares. Este sistema tiende a la inestabilidad, de manera que tras determinado período de tiempo, las bacterias cesan de producir hidrógeno. No se conoce con precisión el motivo por el cual se detiene el proceso, aunque presumiblemente las condiciones en que se mantienen las bacterias no son tan adecuadas como las de su hábitat natural. Posteriores investigaciones pueden superar esta dificultad y, en realidad,

existen algunas esperanzas en este sentido, que se desprenden del trabajo de algunos biotecnólogos japoneses que utilizan células de *Clostridium butyricum* fijadas en filtros, a las que alimentan con aguas residuales, que contienen azúcares, procedentes de una fábrica de alcohol. En este caso, las bacterias continúan produciendo hidrógeno gaseoso durante más de un mes, mucho tiempo si se compara con las pocas horas de producción alcanzadas en los primeros experimentos.

Otro método consiste en obtener el hidrógeno a partir del agua por una ingeniosa combinación de tres técnicas biotecnológicas distintas. Este sistema ya ha empezado a dar muestras de su valor en experiencias de laboratorio. Cuando se ilumina el alga *Chlorella pyrenoidosa*, puede ensamblar dos moléculas de agua y dos moléculas de dióxido de carbono para formar glucolato. Esta sustancia se recoge, previa fragmentación de las células del alga, y se utiliza como materia prima para la siguiente etapa del método. Se suministra el glucolato a la oxidasa glucólica, enzima fijado, que se obtiene de plantas, y que cataliza la transformación de glucolato en formato. En la etapa final del método, se administra el formato a bacterias fijadas en lechos de vidrio, que consumen el formato y liberan hidrógeno gaseoso y dióxido de carbono. De modo que la suma total de las tres etapas del método consiste en la separación de los átomos de hidrógeno y de oxígeno que originalmente estaban unidos formando moléculas de agua (fig. 7-1). Esta vía algo irregular de ejecutar un proceso más bien simple, es necesaria porque no es factible la rotura de las moléculas de agua en un solo paso.

Los biotecnólogos tienen vivo interés en otros métodos de producir hidrógeno empleando la maquinaria fotosintética de las plantas. Sin la fotosíntesis cesaría toda la vida en la Tierra. La compleja interrelación de las cadenas alimentarias de que dependen todos los animales se remonta hasta los organismos fotosintéticos*. Las plantas, las algas y algunas bacterias son los únicos organismos que pueden absorber la energía solar para procurarse la energía necesaria para la vida.

* En la actualidad se sabe que algunos microbios pueden obtener energía de compuestos inorgánicos presentes en las rocas o en el agua del mar (véase la página 233). Estos organismos probablemente no dependan de la actividad de los organismos con fotosíntesis, pero constituyen sólo una pequeña parte de las formas vivientes del planeta.

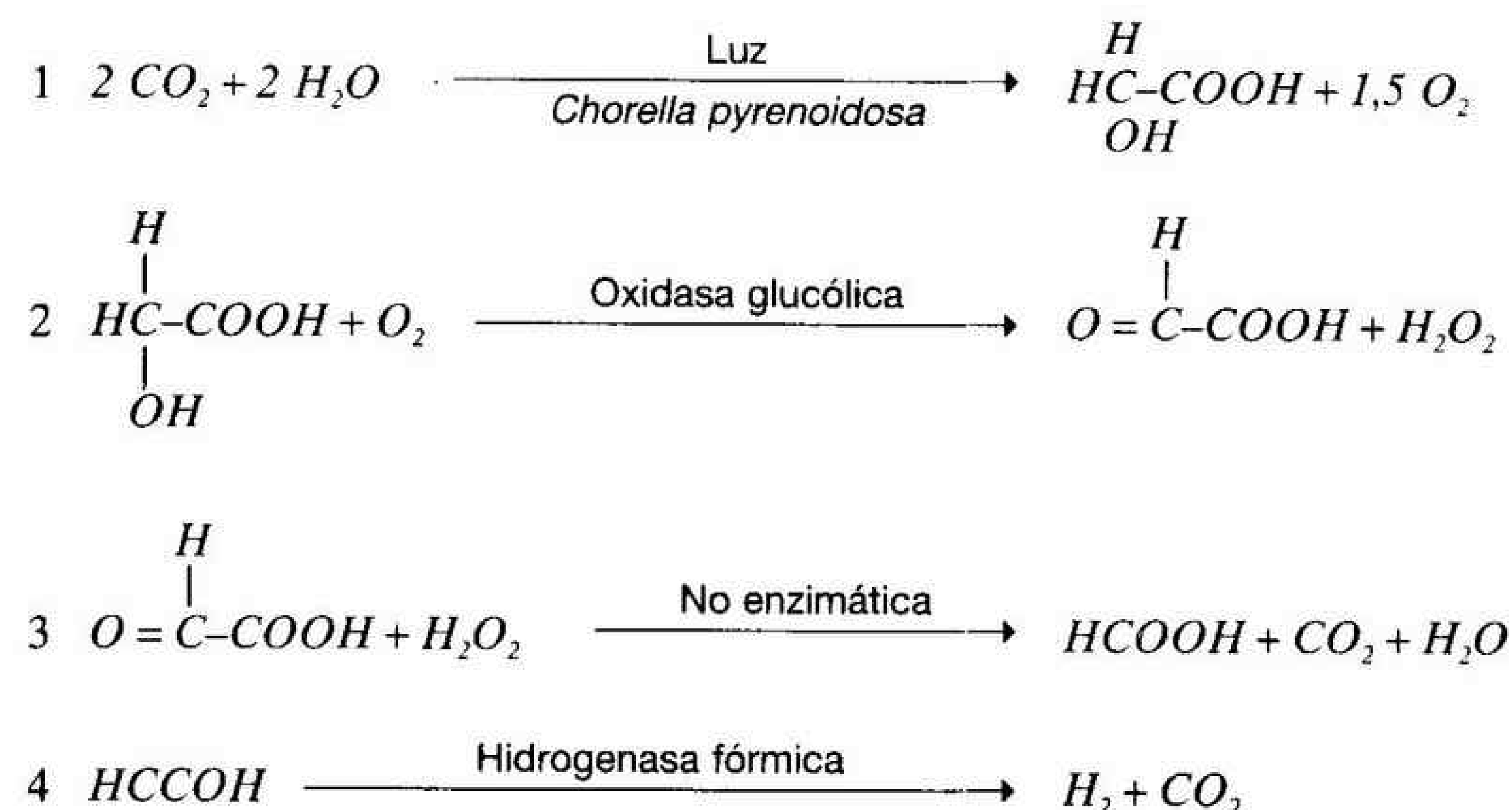


Fig. 7-1. Método en tres etapas para obtener hidrógeno a partir de agua.

Por tratarse de un proceso vital, bioquímicos y fisiólogos han estudiado detalladamente la complejidad de la fotosíntesis y en la actualidad se conocen bien sus principios generales. Cuando determinadas moléculas, especialmente la clorofila, reciben luz, absorben energía. Esta energía se transfiere de una a otra parte de la célula hasta que, finalmente, queda convertida en una forma que la célula pueda utilizar, principalmente en ATP. Absorbida la energía procedente del Sol, se utiliza para combinar agua y dióxido de carbono (del aire) y formar las moléculas orgánicas complejas que la célula necesita. En esta primera parte del proceso se escinden las moléculas de agua y se libera el oxígeno a la atmósfera.

Un completo conjunto de moléculas diferentes interviene en cada una de las principales etapas de la fotosíntesis, lo cual no significa que se conozcan todas las interrelaciones existentes entre dichas sustancias. Pero ahora interesa fijarse en un aspecto de la fotosíntesis: el proceso por el que se escinden las moléculas de agua. Las plantas no producen hidrógeno gaseoso (H_2), sino que

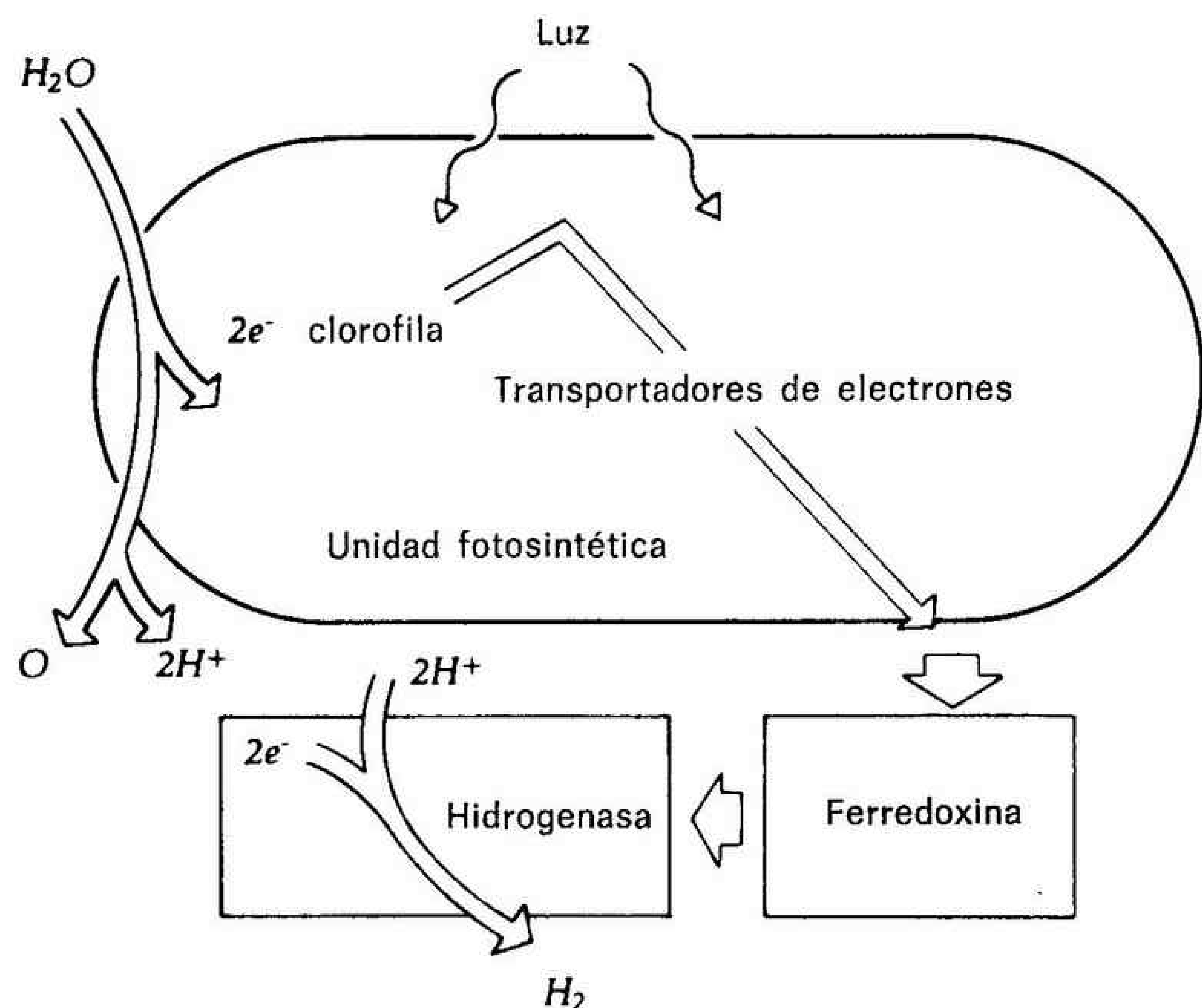


Fig. 7-2. Los cloroplastos extraídos de las plantas absorben la energía lumínica con ayuda de sus moléculas de clorofila. Dicha energía se utiliza para romper la molécula de agua en dos iones H^+ y un átomo de oxígeno, y al mismo tiempo se liberan dos electrones (e^-). Los iones H^+ se difunden desde los cloroplastos hasta la hidrogenasa, y los electrones son transportados por una serie de moléculas, conocidas con el nombre de transportadores electrónicos. En los sistemas experimentales de producción de hidrógeno se emplean hidrogenasas obtenidas de bacterias para formar una molécula de H_2 a partir de dos iones H^+ y dos electrones; entonces se desprende hidrógeno gaseoso, que burbujea en la solución y se recoge.

descomponen el agua en forma de átomos de oxígeno, iones hidrógeno (H^+) y electrones. En una célula vegetal normal, los iones H^+ no tienen la posibilidad de combinarse para formar H_2, sino que se utilizan para producir compuestos ricos en energía. Para producir H_2 hay que modificar dicho proceso, lo cual constituye una tarea capaz de poner a prueba, puesto que, por evolución, ha quedado asegurado que las distintas etapas de la fotosíntesis se relacionen sutilmente, de ahí lo ímprobo de intentar desencadenar o impedir determinados procesos. A pesar de ello, biotecnólogos

de diversos países han logrado algunos resultados muy prometedores.

La mayoría de estos sistemas experimentales no se basan en la utilización de plantas enteras ni tampoco de células vegetales enteras sino en la de los cloroplastos, pequeñas estructuras ovoideas, extraídas de las células vegetales. Los cloroplastos contienen clorofila así como diversos compuestos que absorben y canalizan la energía lumínica. En la figura 7-2 se muestran los procesos fundamentales que se desarrollan durante la producción de hidrógeno en un típico sistema experimental. Por el momento, los sistemas como éste están proyectados para trabajar sólo durante unas horas. Sin embargo, solamente seis años atrás, los sistemas disponibles funcionaban únicamente unos minutos. Si pudiera mantenerse el mismo ritmo de progreso, un procedimiento comercial factible podría entrar en funcionamiento en el futuro. Las investigaciones en curso van encaminadas a obtener el componente más resistente en cada etapa del sistema. Por ejemplo, los cloroplastos utilizados proceden a menudo de la espinaca, si bien parece que ciertas plantas herbáceas tienen cloroplastos más estables y quizá por ello resulten más adecuadas. Uno de los mayores problemas que presentan las hidrogenasas es que muchas son muy sensibles al oxígeno, y éste se origina cuando se escinde el agua. Algunas hidrogenasas procedentes de determinadas bacterias son más resistentes y no se estropean tan rápidamente con el oxígeno.

Puede suceder, cuando se hayan examinado todas las posibilidades, que los materiales puramente biológicos resulten demasiado frágiles para su utilización industrial. Esto no significaría que los años de investigación hayan sido inútiles, ya que conocer mejor cómo en la naturaleza se han resuelto determinados problemas proporciona valiosas soluciones para poder hacer lo mismo. Por ejemplo, en la actualidad se avanza muchísimo en la construcción de sistemas fotosintéticos artificiales copiados de los naturales. El biomimetismo (el arte de aprender de la naturaleza y de imitarla) será, en los próximos años, una de las principales facetas de la tecnología.

VIII. BIOTRANSFORMACIONES: LA SENDA DEL FUTURO PARA LA INDUSTRIA

Shell, Du Pont, Imperial Chemical Industries, Exxon, International Nickel y Standard Oil son sólo algunas de las empresas multinacionales que apuestan por el futuro de la biotecnología. Muchas tienen intereses en las industrias farmacéutica, agrícola o energéticas y, por consiguiente, se benefician del desarrollo de la biotecnología descrito, pero se sienten atraídas en especial por las posibilidades de la biotecnología en sus otros campos de negocios: la química, la minería y la extracción de petróleo, que constituyen el núcleo de la economía de los países desarrollados.

En la actualidad, buena parte de la industria química mundial se sustenta sobre materias primas procedentes del petróleo, el gas y el carbón. Los plásticos, las pinturas, los adhesivos y el caucho sintético provienen, en todos los casos, total o parcialmente, de estos recursos que escasean. En 1978, y sólo en los Estados Unidos de América, la actividad económica de las petroquímicas, de unos treinta y cinco mil millones de dólares, se basaba en unas pocas materias primas. Varias pueden ya fabricarse mediante procesos biotecnológicos, como, por ejemplo, la acetona, la glicerina, el butanol y el etanol, y el rápido progreso en este campo puede añadir pronto otras sustancias a la lista.

ACETONA Y BUTANOL: ¿UN RENACIMIENTO BIOTECNOLÓGICO?

Por desgracia, la guerra es uno de los más potentes motores de la innovación industrial. Poco después de iniciada la primera gue-

rra mundial, Alemania y Gran Bretaña se enfrentaron con una crisis similar: escaseaban las sustancias químicas necesarias para fabricar las municiones. Gran Bretaña necesitaba más acetona, disolvente líquido que se utiliza en la producción de cordita, mientras que Alemania carecía de glicerina, con la que se prepara la dinamita. Ambos países pusieron su atención en los microbios y obtuvieron con ellos un considerable éxito en la solución de sus problemas. Pronto Alemania estuvo produciendo mil toneladas de glicerina al mes. Después de la guerra, el auge de la industria petroquímica suplantó a la biotecnología como fuente principal de acetona y de butanol. En los últimos años se ha obtenido mejor conocimiento de los microorganismos que realizan aquellos procesos, en una situación forzada por el considerable incremento de los precios del petróleo. Estos factores pueden cerrar un largo círculo, reinstalando éste y otros procesos biotecnológicos a una posición central de la industria química. Esta vez con usos mucho más constructivos, entre ellos la fabricación de plásticos, fibras y resinas.

En 1912, el químico Chaim Weizmann (que luego sería el primer presidente de Israel) trabajaba en Manchester, donde desarrolló un método por el cual la bacteria *Clostridium acetobutylicum* fermenta almidón para producir acetona y butanol líquidos, y éste fue el proceso que se introdujo en gran escala durante la guerra. Luego, el método de Weizmann cayó en desuso, mientras la demanda de acetona y butanol aumentaba de modo constante. La industria química de los Estados Unidos consume al año más de un millón de toneladas de acetona, aproximadamente, y buena parte de ellas las destina para la fabricación de plásticos. El butanol, cierto tipo de alcohol, tiene aún muchas más aplicaciones, y se emplea para fabricar resinas, barnices protectores, caucho sintético y líquidos de frenos.

En muchos aspectos, el procedimiento de Weizmann es similar a la producción de alcohol como combustible (véase la página 204) y los biotecnólogos se enfrentan con el mismo tipo de problemas para desarrollar sistemas económicamente atractivos. Existe, sin embargo, una diferencia particularmente notable: cuando en ausencia de aire se proporciona azúcar a las levaduras siempre producen alcohol, mientras que la *Clostridium acetobutylicum* no

siempre elabora acetona y butanol. Los microbiólogos buscan cepas de la bacteria que se basen en la producción de tales compuestos. Por otro lado, esta bacteria es insólitamente muy sensible a las condiciones de cultivo y a menos que la temperatura, la acidez y otros factores sean precisamente los adecuados, no produce acetona ni alcohol en cantidades apreciables. Esto significa que se tiene que controlar cuidadosamente la fermentación.

Otra dificultad estriba en que la bacteria queda dañada por los productos que elabora. De la misma manera que las levaduras no toleran altas concentraciones de alcohol en su medio, tampoco la *Clostridium acetobutylicum* tolera ni la acetona ni el butanol. Por desgracia, el problema es aquí mucho más grave y basta con el 2 o el 3 % de estas sustancias en el líquido de cultivo para inhibir la producción ulterior. Esto significa que los tanques de fermentación deben proyectarse de modo preciso para obtener las cantidades deseadas de los productos y que es elevado el coste de la operación de purificar los productos, disueltos en pequeñas cantidades en el líquido del tanque.

A pesar de todos estos inconvenientes hay buenas razones para ver con optimismo el futuro del procedimiento de Weizmann. En particular, experimentos recientes indican que la fijación de las bacterias puede aumentar la eficacia de la fermentación entre el 65 y el 200 %. Si se consiguen estos aumentos en la práctica, mejorará considerablemente la economía del procedimiento.

Hasta la primera guerra mundial, la industria alemana fabricaba la glicerina con aceite vegetal importado, pero el bloqueo naval británico cortó pronto el suministro de esta materia prima. Esto supuso un acicate para el desarrollo de la obra del bioquímico Carl Neuberg, quien pocos años antes había descubierto que la pequeña cantidad de glicerina que producen las levaduras cuando fermentan azúcares podía aumentarse notablemente añadiendo una sencilla y barata sustancia química: el bisulfito sódico. Desde entonces, el glicerol ha pasado a ser casi indispensable para la industria química, donde se emplea, por ejemplo, como lubricante y suavizador, plastificante para la celofana y como materia prima para la obtención de resinas. Hoy, en el campo comercial, el procedimiento de Neuberg ha caído en el olvido y el glicerol se ob-

tiene a partir de productos petroquímicos y de aceites vegetales. Sin embargo, en el plazo de pocos años este procedimiento puede volver a tener actualidad debido también al aumento de los costes de los demás métodos de obtención. Mucho más a mano se encuentra una técnica totalmente nueva, en que se utilizan algas como fuente de glicerina.

A pesar de su nombre, el mar Muerto está colonizado por algunos organismos. Las altas concentraciones de sal (más de ocho veces la de los océanos) existentes en el mar Muerto y en el Gran Lago Salado de Utah matan a muchos organismos. La muerte se produce porque el agua del interior de sus células es impelida, a través de las membranas, hacia el ambiente salino exterior. Determinados microorganismos, denominados halófilos (que les gusta la sal), poseen mecanismos para impedir esta deshidratación. Uno de ellos, el alga *Dunaliella bardawil*, produce grandes cantidades de glicerol, de modo que sus células contienen grandes cantidades de este disolvente, el cual contrarresta la presión osmótica, fuerza que tiende a expulsar el agua hacia el exterior de la célula.

En Israel, cerca de las costas del mar Rojo, esta alga se cultiva en embalses especialmente construidos, de unas dos hectáreas de superficie. Puesto que la *Dunaliella bardawil* es un organismo fotosintético, obtiene buena parte de su energía del Sol y sólo deben proporcionársele algunos nutrientes. Recogida y secada, puede extraerse el glicerol, que algunos cálculos estiman en el 40 % del peso seco de las células (descontado el agua).

Esta alga es uno de los organismos más prometedores para la biotecnología. Contiene también alrededor del 8 % de betacaroteno, el compuesto que confiere a las zanahorias su característico color y que constituye un prometedor mercado como colorante alimentario. Una vez extraídos la glicerina y el betacaroteno, el residuo resultante constituye un excelente alimento proteínico para el ganado. Además, esta alga prospera bien en aguas salobres, por lo que puede cultivarse en regiones semiáridas donde el agua dulce es un bien escaso. El que este tipo de biotecnología no compita con la agricultura por el agua de calidad es un factor de especial importancia para muchos países poco desarrollados. La *Dunaliella bardawil* constituye una ayuda para las industrias de baja tecnología que necesitan poca inversión de capital. Se pueden

obtener de estas células valiosos productos con bastante facilidad, mientras que los embalses de cultivo no requieren atención especial. En particular, la contaminación por organismos indeseados —el azote de muchos biotecnólogos— se ha eliminado en buena parte: las altísimas concentraciones de sal presentes en los embalses destruyen la mayoría de los demás organismos.

LA BIOTECNOLOGÍA Y LA INDUSTRIA DE LOS PLÁSTICOS

La industria del plástico mueve actualmente más de cincuenta mil millones de dólares anualmente, lo que constituye un tentador mercado para las empresas biotecnológicas. Como se ha visto, dichas industrias pueden aportar acetona, glicerina y butanol a la industria química, mientras que el etanol fabricado por las factorías de alcohol destinado a combustible también se puede emplear con el mismo fin. El etanol se utiliza como importante material de partida para la producción de materias tan diversas como detergentes, colorantes, adhesivos y resinas para fibras sintéticas.

Entre los diversos nuevos y ambiciosos proyectos, uno de los más prometedores lo constituye la síntesis de los compuestos denominados óxidos de alqueno, ampliamente utilizados en la fabricación de plásticos y espumas de poliuretano, usadas comúnmente en la industria del mueble. El desarrollo de este procedimiento empezó a funcionar a finales del decenio anterior y puede estar en condiciones de emplearse comercialmente a finales del presente, con unas posibles ventas de dos o tres miles de millones de dólares.

Los alquenos son un grupo de compuestos constituidos únicamente por carbono y oxígeno. Lo más importante para la industria del plástico es que los alquenos se pueden polimerizar, es decir, se pueden enlazar las moléculas para formar cadenas, originando materiales como el polipropileno (utilizado, por ejemplo, para fabricar contenedores) y el polietileno (más conocido como politeno). Antes de que los alquenos se puedan polimerizar para fabricar plásticos, se tienen que convertir en óxidos de alqueno

mediante la adición de oxígeno a sus moléculas. Esto se consigue en la actualidad por métodos puramente químicos, pero se vislumbran en el horizonte dos procedimientos biotecnológicos. En el primero, proyectado en buena parte por la firma californiana Cetus, se utilizan tres enzimas, dos de ellos procedentes de hongos y el tercero bacteriano, para realizar la misma función, la obtención de óxidos de alqueno, que hoy se consigue con métodos químicos (fig. 8-1).

Más prometedor todavía es el procedimiento patentado en 1981 por científicos de la Universidad de Warwick (Inglaterra).

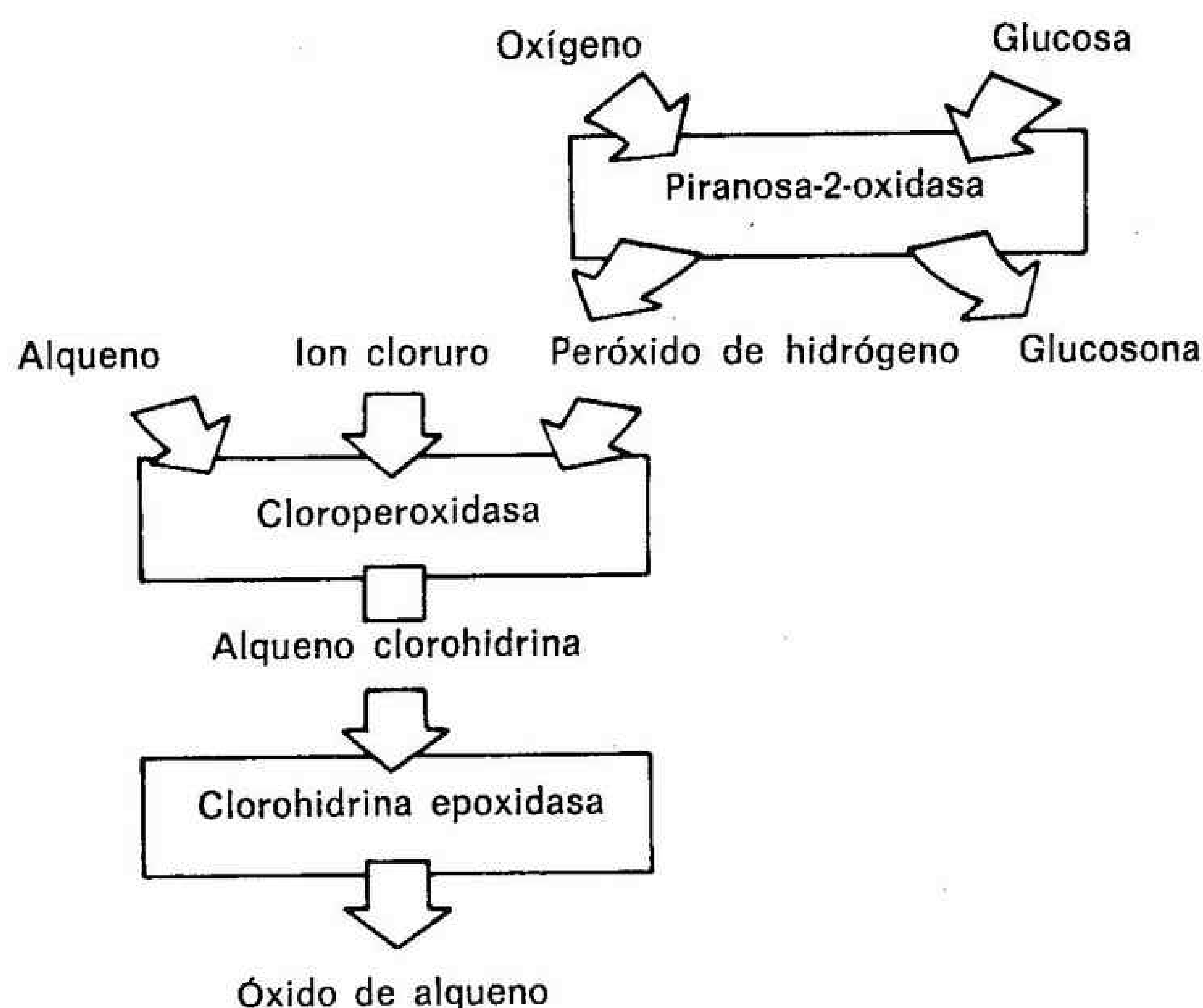


Fig. 8-1. Los alquenos, como, por ejemplo, el etileno y el propileno, se convierten en óxidos de alqueno y después se polimerizan para formar plásticos, tales como el polietileno y el polipropileno. Se puede emplear una serie de tres enzimas para fabricar óxidos de alqueno. En primer lugar, un enzima, la piranosa-2-oxidasa (obtenida a partir de hongos), cataliza una reacción entre el oxígeno y la glucosa para producir peróxido de hidrógeno. Otro enzima fúngico, la cloroperoxidasa, enlaza el peróxido de hidrógeno y un ion cloruro procedente de una solución de cloruro sódico (sal común) a una molécula de alqueno clorhidrina. Posteriormente, el cloruro y un ion hidrógeno se eliminan con ayuda de la epoxidasa, enzima procedente de una bacteria, para originar un óxido de alqueno.

Estos investigadores descubrieron en los famosos baños de la ciudad de Bath un microbio capaz de añadir oxígeno a los alquenos. Efectivamente, cuando se le proporcionan gases de propileno o de etileno, la bacteria *Methylococcus capsulatus* puede introducir una molécula de oxígeno en dichas moléculas para formar, respectivamente, óxido de propileno u óxido de etileno. Esta bacteria interesa particularmente porque vive bien a 45 °C, temperatura a la que los óxidos de alqueno son gaseosos. Es mucho más sencillo recoger el producto final en forma de gas que no de líquido mezclado con todos los demás materiales del tanque de fermentación.

Tanto los sistemas enzimático como el bacteriológico presentan ventajas respecto al procedimiento tradicional. Los métodos químicos actuales requieren la utilización de cloro gaseoso, que resulta caro, mientras que la técnica enzimática utiliza la barata sal común, y la bacteriológica, ni eso. Ambos procedimientos trabajan a temperaturas bajas, con lo que se ahorran gastos en energía, y tienen la gran capacidad de adaptación de poder producir diversos tipos de óxido de alqueno con las mismas instalaciones fundamentales. Por último, la contaminación producida por los tratamientos químicos puede evitarse con el empleo de enzimas o bacterias.

Un aspecto notable de estas biotecnologías del futuro es la manera cómo integrarlas en la industria tradicional. Los alquenos podrían seguir obteniéndose del petróleo o materias similares y la polimerización de los óxidos de alqueno también cabría continuar efectuándola con técnicas químicas y servirse de la biotecnología en las etapas intermedias del sistema. El hecho de que el sistema se base en el petróleo como fuente de alquenos es un inconveniente bastante obvio, pero mirando más allá, al futuro, quizá sea posible vislumbrar una fuente biotecnológica de alquenos. No se conocen, de momento, microorganismos que produzcan cantidades importantes de alquenos, pero como se ha visto a menudo en páginas anteriores, la búsqueda paciente de los organismos que contengan las sustancias deseadas puede resultar positiva. Si la búsqueda fracasara, el problema podría traspasarse a los especialistas en ingeniería genética, para quienes proyectar un microorganismo que produzca alquenos pondría a prueba sus conocimientos e in-

genio. Hay pocas probabilidades de que la introducción de un solo gen en un microorganismo pueda obligarlo a sintetizar alquenos, ya que los genes codifican enzimas u otras proteínas, compuestos bastante diferentes de los alquenos. Sería preciso inserir varios genes, de los cuales, cada uno codificara un enzima de una serie. Entonces, estos enzimas podrían actuar de modo coordinado para llegar a convertir alguna sustancia presente de ordinario en la célula en un alqueno.

Un procedimiento biotecnológico más inmediato para la industria de los plásticos se relaciona con un compuesto denominado polihidroxibutirato (PHB). Este material, parecido a los poliésteres sintéticos utilizados en la industria textil, se encuentra en muchos tipos de bacterias. El PHB bacteriano, aunque más frágil, es biodegradable, lo cual ha estimulado su uso en suturas quirúrgicas, ya que los hilos de esta sustancia utilizados durante una operación podrían disolverse posteriormente una vez cumplida su función. Actualmente el PHB se fabrica a toneladas y pronto será un producto comercializado en gran escala que competirá con los plásticos basados en el petróleo.

DULCIFICANDO LOS BENEFICIOS DE LOS POZOS DE PETRÓLEO

En el mercado de los combustibles y de las materias primas para la industria química, la biotecnología y la industria del petróleo entrarán en dura competencia. En cambio, la biotecnología promete ser una ayuda para las perforaciones petrolíferas en cuanto a la recuperación de las enormes reservas de petróleo. Cuando un sondeo «da en el blanco», el petróleo mana a la superficie, pero, por desgracia, menos de la mitad del petróleo de un yacimiento típico sube hasta la boca del pozo con esta facilidad. La extracción del resto requiere dosis considerables de tiempo e ingenio. Cerca del cincuenta por ciento del petróleo producido actualmente en los Estados Unidos se saca del subsuelo con ayuda de los métodos de recuperación secundaria. Entre ellos, por ejemplo, el bombeo de agua en la formación rocosa para desalojar el petróleo contenido en las cavidades subterráneas y forzado a subir

a la superficie. Incluso con la utilización de los métodos de recuperación secundaria, cantidades estimadas en unos trescientos mil millones de libras esterlinas de petróleo del mar del Norte, así como el 90 % de los trescientos treinta mil millones de barriles de las reservas de petróleo de los Estados Unidos, podrían quedar tenazmente bloqueados en el subsuelo. Se necesitan métodos terciarios de recuperación para extraer estas preciosas reservas, y aquí es donde la biotecnología entra en juego.

La mayor parte de las reservas de petróleo no se encuentran en forma de grandes masas de líquido, sino en una película de revestimiento de las partículas de la roca. El petróleo se pega firmemente a estos granos y se tiene que desalojar antes de poder subirlo a la superficie. El agua usual no tiene suficiente fuerza para desalojarlo; simplemente se esparce tras el revestimiento de los granos de petróleo. En los métodos terciarios de recuperación (también llamados de recuperación del petróleo cautivo) se añaden determinadas sustancias al agua para hacerla más viscosa; uno de tales materiales es la goma de xantano.

La goma de xantano, polisacárido producido por la bacteria *Xanthomonas campestris*, está constituida por cadenas de múltiples unidades de glucosa, de las que cuelgan otros tipos de glúcidos a trechos regulares. Esta estructura nudosa hace de la goma de xantano un agente espesante muy eficaz, que permite a la mezcla de agua y goma actuar como un pistón bombeando el petróleo hacia los pozos (fig. 8-2). En la actualidad, el precio es el mayor obstáculo para generalizar su utilización en la extracción de las reservas de petróleo recalcitrantes. El mismo tipo de estrategias biotecnológicas que se han aplicado con tanto éxito con otros organismos podría reducir fácilmente los costes de la goma de xantano en un futuro próximo.

La goma de xantano y otros materiales similares excretados por microbios ya se utilizan en la industria del petróleo. Los enormes taladros con que se horada la roca tienen que lubricarse, lo cual se realiza con diversos tipos de lodos. Estos lodos de perforación —mezclas de agua, arcillas y otras sustancias— contrarrestan además la presión ascendente del petróleo. Los polisacáridos microbianos han resultado ser unos espesantes muy adecuados.

Si tan eficaz es la goma de xantano en la recuperación terciaria del petróleo, ¿por qué molestarse en cultivar las bacterias en fábricas, extraer la goma y bombearla a los yacimientos? ¿Por qué no mandar directamente los microbios al subsuelo? Esto es exactamente lo que intentan algunas compañías petroleras. Están ya en funcionamiento yacimientos experimentales donde se utilizan *Bacillus* y *Clostridium* en lugar de *Xanthomonas* y los primeros resultados obtenidos son esperanzadores. Mientras estas bacterias están en el subsuelo, se les proporcionan glúcidos y otros nutrientes, con lo que crecen y elaboran sustancias químicas que contribuyen a despegar el petróleo; producen, además, dióxido de carbono y otros gases que ayudan a bombear el petróleo hasta la superficie.

Es destacable que estas bacterias puedan vivir en condiciones de altas presiones y temperaturas, carencia de oxígeno y de agua y sometidas a grandes cantidades de sales y sulfuros, circunstancias todas ellas negativas. Esto muestra que nunca se debe menospreciar la resistencia y la capacidad de adaptación de los microorganismos y que estas cualidades, potenciadas en la medida necesaria por los biotecnólogos, pueden pronto utilizarse comercialmente en la industria del petróleo.



Fig. 8-2. Utilización de la goma de xantano para beneficiar petróleo. En primer lugar se bombea hacia el subsuelo agua que contenga algún detergente, para separar el petróleo de las partículas de la roca. Luego se inyecta agua espesada con goma de xantano, que actúa como un pistón y empuja el petróleo hacia la torre de extracción.

MICROORGANISMOS EN LA MINERÍA

«Una planta de extracción mineral del futuro podría tener el aspecto de una planta de tratamiento de agua actual... libre de la suciedad y los montones de escorias asociadas normalmente con las operaciones mineras, mientras que bajo el suelo millones de microbios realizarían las tareas que en nuestros días se caracterizan por el rugido de la maquinaria, el ruido de los picos y el traspalado del mineral» (doctor Richard Manchee, Microbiological Research Establishment, Gran Bretaña, 1979).

Esta visión de la minería no es pura fantasía; ya se utilizan los microbios para la extracción de metales valiosos, como el cobre y el uranio, contenidos en las rocas. Es virtualmente seguro que durante los próximos años, la fuerza de trabajo de los microorganismos se aprovechará en otras muchas operaciones mineras.

En la minería tradicional de minerales metálicos, deben molerse y acarrearse grandes cantidades de rocas, que luego se tratan químicamente para recuperar los metales. Aunque laborioso y caro, este método corriente es rentable económicamente si la roca contiene elevada proporción de menas metálicas, es decir, si contiene una proporción relativamente elevada del metal buscado. Las altas concentraciones de menas son cada vez más escasas, aunque sigue habiendo grandes cantidades de metales en el suelo. Por ejemplo, se han abandonado las minas de oro de Wales (California), no porque se haya extraído todo el oro, sino porque las más ricas ya están exhaustas y no resulta rentable el esfuerzo de tratar cantidades cada vez más grandes de roca para obtener la misma producción del precioso metal.

De modo que el problema con que se enfrenta la industria minera es la utilización de yacimientos con bajas concentraciones de menas metálicas, que no pueden explotarse económicamente con ninguna técnica usual. Los ingenieros de minas de España, Canadá, los Estados Unidos y otras partes del mundo piensan que la respuesta consiste en apoyarse en los microorganismos que extraen y concentran metales valiosos en una forma que resulta más barata y más fácil de manejar.

El *Thiobacillus ferro-oxidans* es probablemente uno de los se-

res vivientes más viejos de la Tierra, aunque no se descubrió hasta 1947 en una mina de carbón abandonada de la Virginia occidental. Actualmente se sabe que esta bacteria se encuentra en muchos tipos de rocas de todo el mundo y que puede haber millones de individuos en un solo puñado de material. Muchos microbios tienen preferencias alimentarias asombrosas, pero ninguna tan singular como este organismo en forma de bastoncillo. No obtiene su energía de la luz solar (normalmente vive en la más completa oscuridad) ni de materiales orgánicos, sino que la consigue de compuestos inorgánicos, como el sulfuro de hierro, y utiliza esta energía para producir los materiales que necesita para vivir de un ambiente rico en dióxido de carbono y nitrógeno. En este proceso también elabora ácido sulfúrico y sulfato de hierro, lo cual explica por qué la *Thiobacillus ferro-oxidans* puede utilizarse en operaciones mineras.

El ácido sulfúrico y el sulfato de hierro que produce atacan las rocas que la rodean y lixivian (disuelven) muchos minerales metálicos. Por ejemplo, la actividad de tales microbios puede convertir el sulfuro de cobre insoluble en sulfato de cobre soluble. Si se infiltra agua a través de la roca, se arrastra el sulfato de cobre y finalmente se puede recoger en charcas de un brillante color azul. De este modo, es posible concentrar el cobre esparcido en miles de toneladas de rocas con bajas concentraciones de metal en albercas con elevado contenido metálico. El metal se beneficia haciendo pasar la solución de sulfato de cobre a través de superficies de hierro sobre las que se deposita. De ahí se obtiene finalmente por raspado. El uranio, por su parte, se lixivia de la misma manera.

Actualmente, alrededor del catorce por ciento de la producción de cobre de los Estados Unidos ya se obtiene de este modo. En la actualidad, la lixiviación microbiológica se emplea principalmente con materiales residuales de la minería tradicional y en procesos de extracción que dejan cantidades importantes de metal en las escorias. Con tales materiales de «desecho» se construyen terrenos de hasta casi cuatrocientos metros de altura y cuatro mil millones de toneladas (lámina 14). Se riega la superficie de estos montículos de manera que el agua, al filtrarse, disuelve los compuestos solubles originados por la acción de las bacterias. La constante presencia de la *Thiobacillus ferro-oxidans* significa en la

práctica que raramente es necesario introducirla en los terrenos. La superficie sobre la que se edifica el montículo se recubre generalmente con arcilla o con asfalto para que los líquidos ricos en mineral puedan recogerse en depósitos en lugar de filtrarse hacia el subsuelo.

Cuando utilizan microbios en este tipo de procedimientos, los ingenieros de minas siguen topando con el problema de los considerables costes que supone la extracción de los recursos hasta la superficie. La experiencia conseguida en la mina de uranio Stanrock (Canadá) revela que ni éstos son a veces necesarios. Esta mina se abrió en 1958, trabajando según principios tradicionales. En 1962 se observó que el enorme charco de líquido que se había acumulado en el subsuelo contenía cerca de trece mil kilos de óxido de uranio, que había sido lixiviado de las rocas. Poco tiempo después se interrumpieron las actividades mineras tradicionales y se dejó buena parte del trabajo en manos de las bacterias. Esta solución subterránea redujo los costes en una cuarta parte. Casi con toda certeza se adoptarán técnicas similares en otras minas, especialmente en las que utilizan materiales con bajas concentraciones del producto buscado. Algunos procesos semiindustriales ya han mostrado su posible valor por lo que respecta a la recuperación, por lixiviación microbiológica, de metales como el cobalto, plomo y níquel, mientras que otros metales valiosos, como el cadmio, galio, mercurio y antimonio, constituyen empresas que se han de acometer en el futuro. Las posibilidades de esta metodología son enormes: por ejemplo, los Estados Unidos tienen miles de millones de toneladas de rocas que contienen pequeñas concentraciones de níquel. Puesto que, por término medio, cada tonelada de roca sólo contiene un kilo de níquel, resulta antieconómica la extracción de este valioso metal con técnicas mineras tradicionales. Un avance de la minería microbiológica podría posibilitar la utilización de este níquel, valorado en unos sesenta mil millones de dólares, lo cual permitiría además recuperar cobalto contenido en las mismas rocas, estimado en diez mil millones de dólares.

La minería microbiológica tiene la ventaja adicional para los países menos desarrollados de que elimina la necesidad de parte del costoso (y normalmente importado) equipo minero pesado.

Aunque para este tipo de desarrollos mineros se precisa considerable inversión de capital, los microbios pueden ayudar a estos países a no gastar sus preciosas reservas de divisas.

MICROBIOS BARRENDEROS

La amenaza que la contaminación supone para el hombre y para el medio ambiente se ha hecho muy patente en los últimos años. Los vertidos de petróleo, los plaguicidas, los herbicidas, los vertidos químicos y los metales pesados —como el plomo y el mercurio— son sólo algunos de tales peligros. Cabe recurrir a la biotecnología para afrontar dichos peligros, en una doble manera. En primer lugar, es posible atacar las raíces del mal con la introducción de un mayor número de métodos de producción biotecnológica, que son intrínsecamente menos contaminantes. Por ejemplo, en la fabricación de productos químicos para la industria de los plásticos, con ayuda de la biotecnología se pueden utilizar microbios que se alimentan de materias primas tan inocuas como el azúcar, mientras que los procedimientos tradicionales emplean materias primas basadas en el petróleo, alguna de las cuales escapan de manera inevitable y contaminan el ambiente. En segundo lugar, cabe utilizar los microbios como voraces barrenderos que eliminen toda suerte de contaminantes.

El objetivo principal de todas las biotecnologías consideradas hasta el presente es la fabricación de productos específicos. El que determinadas materias primas se consuman durante el proceso es una necesidad a menudo cara. En aquellos procedimientos biotecnológicos dirigidos a controlar la contaminación se invierte el objetivo: su principal finalidad es la destrucción de materias primas específicas: las sustancias contaminantes. A pesar de esta distinción fundamental debe notarse que no existe una línea divisoria precisa entre las biotecnologías de productos finales y las biotecnologías de materias primas. Por ejemplo, la viabilidad económica de los generadores de metano descritos en el capítulo VII depende de dos factores: el valor del combustible metano producido y el que puedan cumplir una función útil en cuanto a la eliminación de residuos agrícolas y domésticos.

Verter microbios en el sucio petróleo

Las *Pseudomonas* constituyen un grupo de bacterias destacables por su capacidad para aprovechar compuestos extraños que muchos microbios evitan. En particular, varias cepas de *Pseudomonas* pueden consumir los hidrocarburos, principal componente del petróleo y la gasolina. Cada cepa, sin embargo, sólo puede aprovechar uno, o pocos, de los muy diversos tipos existentes de hidrocarburos. Los genes que codifican los enzimas que atacan los hidrocarburos no se encuentran en el cromosoma bacteriano principal, sino en los plásmidos, los pequeños anillos semiautónomos de ADN.

Con la intención de crear un «supermicrobio» que fuera capaz de barrer todos los tipos de hidrocarburos presentes en un vertido de petróleo, Ananda Chakrabarty, de la General Electric, introdujo plásmidos procedentes de diversas cepas de *Pseudomonas* en una sola célula (fig. 8-3) con la idea de cultivar dichas bacterias recombinantes en el laboratorio, secarlas y mezclarlas con paja. Esta paja rica en bacterias se guardaría hasta que fuera necesario utilizarla sobre la película de petróleo. La paja embebería el petróleo y las bacterias llegarían a degradar sus componentes hasta sustancias inocuas y no contaminantes.

El microbio de Chakrabarty no se ha empleado comercialmente y lo cierto es que muchos científicos dudan de que pueda serlo en un futuro: arguyen que una mezcla de cepas silvestres de *Pseudomonas* puede degradar el petróleo tan bien, o mejor, que dicho microbio. Con independencia de los méritos de esta bacteria, lo cierto es que este tipo de método podría ser valioso para controlar otras clases de contaminación. En 1981, Chakrabarty y sus colaboradores anunciaron la obtención de un microbio capaz de atacar el 2,4,5-T, herbicida muy persistente que constituye el principal ingrediente del Agent Orange, utilizado para la destrucción de vastas regiones de la jungla vietnamita.

Aunque no se ha comprobado todavía la aplicabilidad de los microbios obtenidos por ingeniería genética, otros tipos más usuales de biotecnologías ya se han utilizado con buenos resultados, tal como ilustran los dos ejemplos siguientes, procedentes de los Estados Unidos. Cuando el *Queen Mary* fue trasladado a Long

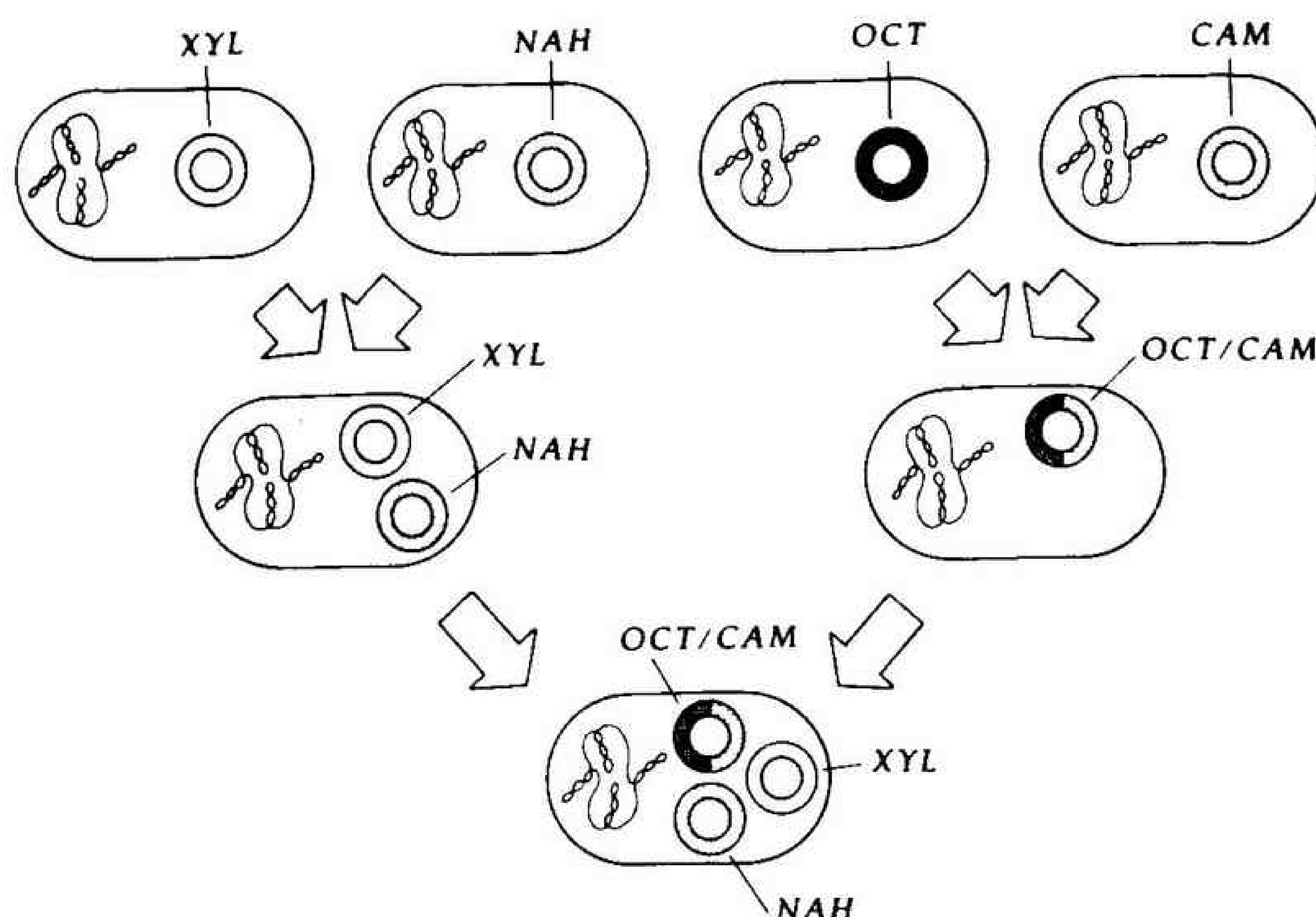


Fig. 8-3. El petróleo contiene diversos tipos de hidrocarburos, siendo los principales grupos los xilenos, los naftenos, los octanos y las cánforas. Ciertas cepas de la bacteria *Pseudomonas putida* pueden consumir algunos de estos compuestos, pero no se conoce ninguna cepa natural que los consuma todos. Los genes que permiten a estas bacterias alimentarse de hidrocarburos se encuentran en cuatro tipos de plásmidos, denominados *xyl*, *nah*, *oct* y *cam*. Introduciendo los cuatro lotes de genes en una sola célula se creó un «supermicrobio» que puede digerir todos los principales componentes del petróleo. Los plásmidos *cam* y *oct* no pueden coexistir en la misma célula, por lo que los genes importantes de ambos se juntaron previamente en un plásmido único.

Beach (California), su pantoque contenía casi cuatro millones de litros de aguas grasientas. Obviamente, su descarga al exterior hubiera significado un peligro para la vida marina y desfigurado las playas más próximas. Para impedirlo, se introdujo en el pantoque una mezcla de varias clases de microorganismos, que en unas seis semanas descompusieron las grasas y originaron una mezcla de agua, bacterias y diversas sustancias químicas inocuas que se podían expulsar de manera segura al exterior.

Una compañía petrolera de Pensilvania se enfrentó con un problema similar cuando una filtración de 27.000 litros de petróleo amenazaba con contaminar las reservas subterráneas de agua. Las mismas bacterias del lugar podían destruir, sin duda, el petróleo, pero sin la intervención humana, el proceso hubiera sido muy lento, con una duración de decenios, porque las bacterias sólo hubiesen podido crecer de manera lenta al faltarles en su medio las suficientes cantidades de oxígeno, nitrógeno y fósforo necesarias para su florecimiento. Infiltrando estas sustancias en el subsuelo, se obliga a las bacterias a trabajar y el petróleo fue degradado en tan sólo un año.

Las bacterias también pueden utilizarse para dar cuenta de otros tipos de desechos. Un ejemplo muy expresivo es el que se muestra en la lámina 10, con el añadido de bacterias al contenido de los depósitos de buques, las cuales impiden muy eficazmente el depósito de grasas en la cara interna de sus paredes. Este tipo de uso de bacterias puede ser muy importante en las factorías que preparan carnes o aves, en que los depósitos y las conducciones pueden obstruirse con las grasas acumuladas.

El mundo viviente ha desarrollado complejas y muy eficaces maneras de consumir y utilizar los residuos naturales. Si no fuera por el constante reciclado de materiales —en que los microorganismos desempeñan la principal parte—, ¡estaríamos metidos hasta las rodillas entre los restos de los dinosaurios! Los nuevos tipos de contaminación, originados por la industria, son los que presentan los problemas más difíciles de resolver. Algunos productos químicos nuevos, como los plaguicidas y aquellas sustancias, como el petróleo y los metales, que antes sólo aparecían en la superficie terrestre en pequeñas cantidades, tienden a persistir porque pocos de los microbios más comunes en el suelo o en el agua pueden utilizarlos como alimento. Este hecho ha creado una creciente demanda de lotes de microbios creados a medida para eliminar contaminaciones específicas. Varias de las mayores compañías, especialmente en los Estados Unidos, ofrecen mezclas de microbios y enzimas ideadas para eliminar residuos químicos, entre ellos los del petróleo, los detergentes, las aguas residuales de las papeleras y sustancias muy tóxicas, como la dioxina, que asoló la villa de Seveso (Italia). En 1978, el mercado norteamericano de productos para controlar la contaminación alcanzó un volumen de negocio de unos tres millones de dólares. A medida que la preocupación popular por los efectos de la contaminación se vaya recogiendo en una legislación más eficaz, la demanda de tales

productos no dejará de crecer, quizá hasta cincuenta veces su cifra actual.

Control de la contaminación en sus raíces

El progreso de la biotecnología para minimizar los efectos de los vertidos de petróleo u otras contaminaciones es evidentemente muy valioso, aunque un enfoque más profundo consiste en atacar directamente las causas de la contaminación. Casi todas las ciudades y poblaciones de los países desarrollados han invertido cuantiosas sumas en una forma de biotecnología: las plantas de tratamiento de aguas residuales. La mayoría de ellas dependen de la acción de microorganismos que purifican las aguas residuales al consumir una amplia variedad de materiales sólidos de los vertidos domésticos y agrícolas. Quizá sorprenderá, pero no están del todo claros los mecanismos por los cuales se produce dicha purificación, y ello porque la composición de las aguas de albañal varía considerablemente y existen muchas especies distintas de microorganismos que actúan en las albercas de tratamiento. Además, como las técnicas actuales son, de ordinario, muy eficaces, hay pocos incentivos para investigar nuevos métodos de tratamiento de los residuos. La situación es, sin embargo, muy distinta en el caso de determinados contaminantes industriales, y, muy especialmente, por lo que respecta a los metales pesados.

Los metales pesados, grupo de elementos entre los que se incluyen el mercurio, cadmio y plomo, son de los más insidiosos contaminantes producidos por la moderna industria. El mercurio, por ejemplo, fue el responsable del más notorio caso de contaminación por envenenamiento metálico, en que muchísimas personas de la aldea japonesa de pescadores de Minamata perdieron la vida o sufrieron graves trastornos del sistema nervioso. Los peces ingirieron el mercurio vertido por una fábrica cercana y posteriormente los consumieron la población local. Los peligros de la contaminación por plomo, y en particular el retraso mental en la infancia, son incuestionables. Muchos países, y Gran Bretaña constituye una excepción notable, han adoptado fuertes controles a la emisión de plomo por los motores de explosión, aunque también existe la necesidad de eliminar el plomo de determinados vertidos industriales.

Los metales pesados son tan tóxicos para la mayoría de los microbios como para los animales y el hombre, aunque algunas especies de algas y bacterias extraen con avidez los metales de su medio ambiente. Este extraño comportamiento ha estimulado a investigadores de la universidad y la industria a buscar nuevos métodos biológicos de purificación de los vertidos con presencia metálica que pudieran sustituir a las actuales técnicas químicas de purificación, bastante costosas. La idea consiste en cultivar bacterias o algas en albercas que contengan los vertidos industriales, así como los nutrientes adecuados, y donde los microbios podrían buscar los metales y mantenerlos en el interior de sus cuerpos. De una cepa de la comunísima bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, por ejemplo, se sabe que acumula grandes cantidades de uranio: hasta la mitad del peso seco (excluida el agua) de cada célula puede llegar a estar constituido por uranio. Estos microbios, o cualquier otro que extrajese otros metales, se podrían filtrar después y depositarlos en vertederos especiales.

El mismo método sirve para recuperar metales preciosos para su reutilización industrial. Por ejemplo, algunos *Thiobacillus* parecidos a los que lixivian metales a partir de menas metalíferas, pueden acumular plata. Cierta cantidad de plata aparece de manera inevitable en las aguas residuales de las fábricas de película fotográfica y otras industrias similares y, en estos casos, dichas bacterias podrían reducir las pérdidas de tan caro metal.

Hace diez años, la lluvia ácida se considera como uno de los peligros principales para el medio ambiente. Produce este tipo de contaminación la combustión de materiales que contienen azufre, en particular el carbón. Durante la combustión, el azufre se oxida y se emite en la atmósfera, donde se disuelve en las gotitas de agua para formar ácido sulfúrico. La lluvia ácida se acumula en lagos, a menudo a cientos de kilómetros de distancia de su lugar de producción, y mata buena parte de la fauna y la flora. Centenares de lagos han sido devastados ya por la lluvia ácida, en particular en Canadá y Escandinavia.

La expansión de la lluvia ácida puede evitarse eliminando el azufre del carbón antes de quemarlo o reteniendo los óxidos de

azufre para que no escapen a la atmósfera. Las técnicas químicas usuales para eliminar la contaminación por azufre suponen un aumento considerable del precio de la tonelada de carbón, aunque este aumento podría reducirse a la mitad si se utilizaran bacterias para ello. Varios tipos de bacterias, en especial las que habitan en manantiales termales, tienen gran avidez por los compuestos de azufre, de los que obtienen la energía, de modo que su actividad podría separar buena parte del azufre procedente del carbón, con el consiguiente logro de un combustible más limpio y valioso. Una planta en pequeña escala existente en Ohio muestra que el procedimiento es viable y en unos pocos años puede comenzar a funcionar a escala industrial.

BIOSENSORES Y BIOCHIPS

La biotecnología y la industria del microchip tienen algunos rasgos en común, siendo uno de los más importantes la celeridad con que se basan en las más recientes innovaciones científicas y las manifiestan en mejoras comerciales. No debe sorprender, por tanto, que estas dos ciencias aplicadas tan diferentes —una basada en la biología y en la física, la otra— se hayan conjuntado para producir algo nuevo y prometedor.

La vida de un organismo depende, en buena medida, de su facultat de percibir y medir la presencia de determinados materiales en el interior de sus células o en su ambiente. Los enzimas forman parte, a menudo de una red compleja de regulación, que asegura que los organismos hagan el mejor uso de los recursos disponibles. Actualmente, los biotecnólogos están cosechando éxitos en el empleo de enzimas y otros materiales biológicos para medir cantidades de muchas distintas sustancias en diversos ambientes. Y no lo hacen copiando los sutiles y relacionados procesos empleados por las células vivas, sino más bien aprovechando las propiedades especiales de los materiales biológicos asociados a microchips. En este sentido, ha sido posible construir «biosensores» capaces de medir hidratos de carbono, proteínas y hormonas en fluidos corporales, contaminantes en agua, gases en la atmósfera, etc.

En principio, el modo de actuar de un biosensor es bastante lógico (fig. 8-4). El componente biológico, normalmente un enzima o un anticuerpo, se elige en función de su propiedad de reaccionar de manera específica con la sustancia que desea medirse. Por ejemplo, cuando el enzima glucosa oxidasa entra en contacto con la glucosa ocurre una reacción química específica, acompañada de la liberación de electrones. Acoplando glucosa oxidasa fijada a un microchip que recoja y amplifique la señal eléctrica, es posible obtener una lectura directa de la cantidad de glucosa presente en la muestra. La posibilidad de medir glucosa, en el torrente circulatorio de un diabético, de manera precisa, rápida y continua abre enormes posibilidades. En primer lugar, permitiría a los diabéticos tener un conocimiento mucho más preciso de su necesidad, en determinado momento, de una inyección de insulina, aunque la posibilidades no quedan limitadas a esto sino que van mucho más allá. Un páncreas normal controla continuamente las concentraciones de azúcar en sangre y reacciona con prontitud a los aumentos o descensos mediante una variación de la tasa de producción de insulina. La noción de páncreas artificial se basa en la facultad de imitar dicho proceso. Biosensores implantados per-

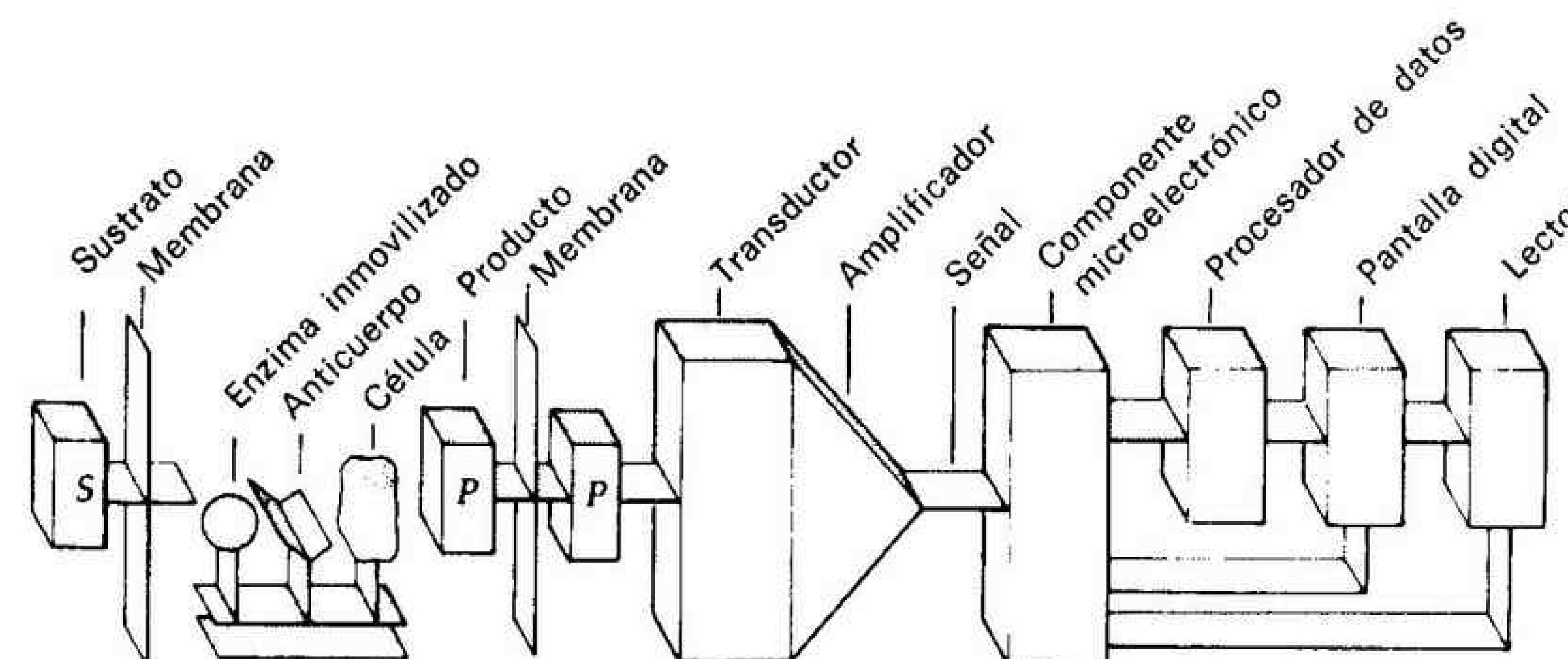


Fig. 8-4. Esquema de un biosensor. La sustancia que se ha de medir (sustrato) atraviesa delgadas membranas para encontrar después el agente biológico sensible, de ordinario un enzima, un anticuerpo o una célula microbiana entera. El sustrato y el sensor reaccionan para dar un producto final, que puede ser una corriente eléctrica, calor, un gas o un compuesto soluble. Posteriormente, el producto atraviesa otra membrana hacia el transductor, que detecta y mide el producto, emitiendo una señal eléctrica que se amplifica y utiliza para dar una lectura de manera inmediata.

manentemente en la piel podrían analizar la concentración de glucosa en sangre y, entonces, las señales del biosensor pasarían a otro pequeño ingenio: una minibomba llena de insulina. En respuesta a lo comunicado por el biosensor, la minibomba liberaría la cantidad correcta de insulina necesaria para el paciente en un momento dado.

Los sensores de glucosa y las minibombas existen ya y es probable que la combinación de ambos se pueda analizar en voluntarios en el plazo de dos o tres años. Si los resultados fueran satisfactorios, la aplicación de esta biotecnología podría originar beneficios médicos de primera magnitud, ya que evitaría los altibajos de insulina en sangre producidos por las inyecciones de insulina al permitir mantener de manera rápida y constante un índice óptimo de insulina y, con bastante probabilidad, reduciría asimismo las lesiones oculares y renales que se producen en muchos diabéticos.

Nuevas aplicaciones de los biosensores se están produciendo mes tras mes y muchas de las más interesantes pueden ayudar a los médicos a establecer diagnósticos rápidos. La hormona gonadotropina coriónica se produce durante el embarazo; después de un ataque cardiaco se presentan, a menudo, elevadas concentraciones de creatinina; los antígenos de la hepatitis se encuentran en la sangre durante las infecciones de este tipo de virus; y cantidades anormales de urea en sangre, o en orina, pueden constituir la indicación de una lesión hepática. En la actualidad, todas las sustancias pueden medirse por medio de biosensores que recurren a enzimas o varios tipos de anticuerpos.

Los biosensores empiezan a ocupar también un lugar en la industria, ya que pueden medir materias como ácidos, alcoholes y fenoles (que intervienen en procesos de fabricación o en desechos industriales). A menudo, en estos casos, el biosensor comporta la utilización de un microorganismo entero en lugar de uno o dos enzimas. Ulteriores mejoras de este tipo de biosensores pueden reportar considerables beneficios al avisar a los trabajadores acerca de la presencia de sustancias extrañas en el ambiente y proporcionar las instrucciones precisas e inmediatas necesarias para dirigir las operaciones de la industria química y de la biotecnológica. La cara oculta de la investigación en biosensores viene indicada

por la ayuda prestada por el ejército al proyecto de biosensores capaces de detectar diversas armas químicas (véase la página 259).

Es probable que en los próximos cinco o diez años se produzca la introducción de los biosensores en muchos de los grandes campos de la medicina y la industria. En cambio, es mucho mayor la escala de tiempo apropiada para el biochip, el segundo producto importante de la conjunción de la biotecnología y el mundo del microchip. Sólo en los últimos tres o cuatro años los científicos han confiado lo bastante para especular acerca de las posibilidades de lo que, en realidad, son computadores biológicos.

En la actualidad se puede acudir a una tienda y comprar un potente computador que cabe confortablemente sobre un pupitre. Sólo unos pocos años atrás, un computador de capacidad equivalente quedaba fuera de las posibilidades económicas de la mayoría de las personas y ocupaba una habitación entera. Esta increíble reducción en el precio y en el tamaño ha sido la consecuencia, en gran medida, del progreso del microchip de silicio, que contiene multitud de circuitos impresos. El progreso del chip de sicilio ha sido tan rápido que los fabricantes de computadores pronto alcanzarán los límites físicos de la tecnología actual. El número de circuitos eléctricos que pueden introducirse en un microchip está limitado por varios factores. El más notable es que el grosor del circuito no puede reducirse por debajo de la longitud de onda de la radiación utilizada para imprimirlo. Además, si los circuitos están apiñados uno al lado de otro de manera demasiado compacta, se produce un fenómeno peculiar, conocido con el nombre de «efecto túnel electrónico», que puede producir cortocircuitos y estropear el funcionamiento. En tercer lugar, si la densidad de los circuitos es también demasiado elevada se puede generar, al entrar en funcionamiento, considerable cantidad de calor que inactiva el sistema. Los biochips, en los cuales diversos materiales biológicos sustituyen el silicio, pueden obviar los tres problemas anteriores en una futura miniaturización ulterior de los computadores, lo que abriría el camino a nuevos computadores más pequeños y potentes.

La idea fundamental de la investigación de biochips consiste en inserir moléculas semiconductoras en una red de proteína y fijar el conjunto sobre un soporte de proteína (fig. 8-5). El circuito

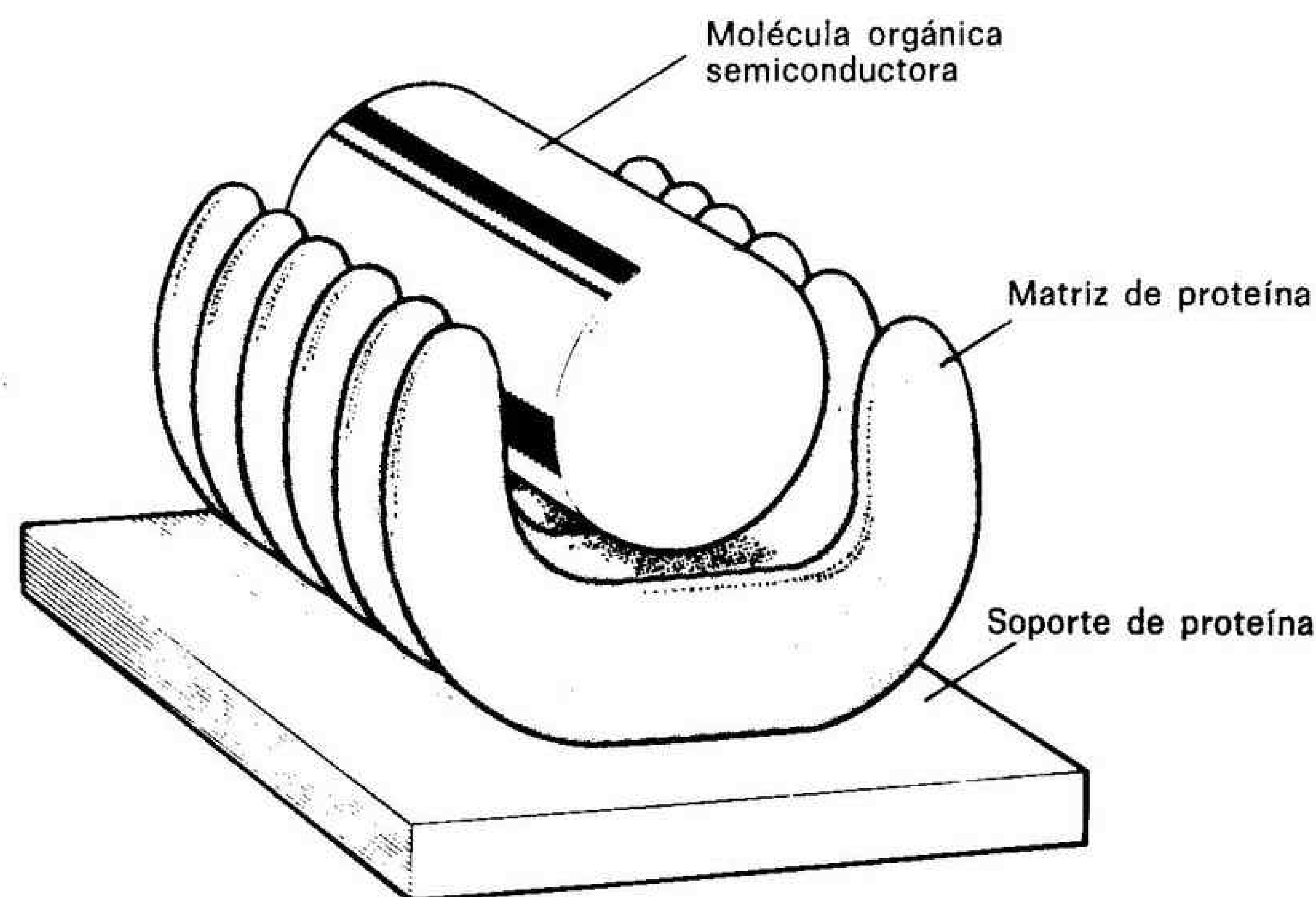


Fig. 8-5. La unidad básica de un biochip es una molécula orgánica semiconductora insertada en una matriz de proteína. Las señales eléctricas pueden pasar a través del semiconductor, de la misma manera que un microchip usual de silicio permite el paso a través de ciertas partes del artilugio.

no sería, en esencia, muy distinto de una gran molécula de proteína. Un rasgo esencial del material biológico que tiene capital importancia para el concepto de biochip es que las proteínas pueden, por ejemplo, ensamblarse por sí mismas en una compleja y previamente determinada estructura tridimensional. Esta propiedad se conoce cada vez más, y así, por ejemplo, Aaron Klug, del MRC Laboratory of Molecular Biology de Cambridge (Inglaterra), recibió el premio Nobel en 1982 por sus trabajos para averiguar de qué manera las proteínas del virus del mosaico del tabaco se ensamblan por sí mismas a partir de subunidades más sencillas. Este fenómeno podría significar que las proteínas empleadas en la fabricación de un microchip podrían, en un cierto sentido, crecer hasta alcanzar la forma requerida por el circuito eléctrico.

El problema del efecto túnel sería menos grave si se utilizaran moléculas orgánicas semiconductoras en lugar de la actual técnica basada en el silicio, y también sucedería que, al tener aquellas

moléculas muy baja resistencia eléctrica, se produciría menos calor, con lo cual los circuitos se dispondrían de forma mucho más densa.

Si los minúsculos computadores basados en biochips pueden llegar a fabricarse, podrían utilizarse en cierto número de sentidos, que no se obtiene ahora con los chips de silicio, entre ellos diversos tipos de usos. Así, por ejemplo, podrían colocarse en miembros artificiales de modo que respondieran a los impulsos nerviosos naturales, de la misma manera que cabría regular marcapasos y quizá podrían curarse la ceguera y la sordera mediante dispositivos que llegasen a percibir los estímulos externos y fueran capaces de convertirlos en señales eléctricas, las cuales, al pasar al cerebro, podrían simular luces y sonidos. Se puede argüir, no obstante, que de todas las posibilidades tratadas en este libro éstas son, probablemente, las más especulativas y de futuro más lejano. Pero de la misma manera se encuentran también entre las más espectaculares y beneficiosas (véase, no obstante, el capítulo IX, página 258, por lo que respecta a algunas preocupantes implicaciones militares).

Un par de divertidos problemas pueden plantearse también a quienes proyectan biocomputadores. Conociendo el oportunismo de los microbios, no debería sorprender mucho la posibilidad de infecciones por bacterias hambrientas que devorarían tranquilamente datos almacenados. Ciertamente, el término desinfectar un computador podría tener un significado literal. Por último, la posibilidad de borrar la información vertiéndola simplemente en depósitos de enzimas digestores de proteínas es algo sumamente atractivo para todos aquellos preocupados por el aumento de la intromisión de los computadores. ¡El computador biodegradable podría ser un gran avance!

IX. ¿QUIÉN SE BENEFICIARÁ DE LA BIOTECNOLOGÍA?

Las ramificaciones de la revolución bioindustrial se extenderán mucho más allá de las industrias directamente afectadas por ella. Los beneficios potenciales: salud, mejor alimento, fuentes de energía renovable, procedimientos industriales más baratos y más eficaces y menos contaminación son inmensos, pero ¿hay posibles desventajas? Cualquier gran tecnología nueva tiene profundos efectos sociales, económicos y políticos y la biotecnología no es una excepción. Las posibles consecuencias del desarrollo de las industrias biológicas en la salud de sus trabajadores y de la población en general, en un plano nacional e internacional, así como sus repercusiones en la economía y la posición de la ciencia en la sociedad deben examinarse.

INGENIERÍA GENÉTICA: EL SONIDO Y LA FURIA

Hace una veintena de años se suscitó una controversia, cuya vehemencia sólo ha sido alcanzada en el mundo de la ciencia por el debate sobre la energía nuclear. La capacidad que el hombre tiene de transferir material genético entre organismos muy distintos llevó a especular sobre la posible creación de «microbios asesinos». La atmósfera emocional del debate acerca de la ingeniería genética fue caldeada, además, por la ignorancia de la biología por parte de algunos de quienes dicen representar los «intereses públicos» y por la arrogancia, fuera de lugar, de algunos «expertos científicos». La racionabilidad en el debate público fue más una excepción que la regla.

En la actualidad, los ánimos se han calmado, y, lo que es más

importante, se han acumulado los hechos, lo que hahecho posible la génesis de valoraciones razonadas acerca de los potenciales riesgos de los distintos tipos de ingeniería genética, y acerca de cómo reducirlos. El argumento central de quienes pretendían regular, o proscribir, la investigación en ingeniería genética era que los organismos de nueva creación podrían producir enfermedades incontenibles. Dos aspectos de la ingeniería genética conferían, especialmente, plausibilidad a aquel hecho: por un lado, el amplio uso que se hacía de la bacteria *E. coli,* cuyo hábitat natural es el intestino humano, y, por otro, el que los plásmidos que confieren resistencia a determinados antibióticos se utilizaban a menudo para transportar fragmentos extraños de ADN hasta los microbios. Se conjeturaba que el ADN extraño podría convertir la normalmente benigna bacteria *E. coli* en otra criatura capaz de producir enfermedades peligrosas. Dicha bacteria podría infectar a alguna persona —probablemente un investigador— y difundirse por toda la población. Finalmente, se argüía, comoquiera que el cuerpo humano está bastante acostumbrado a la presencia de *E. coli,* no sería capaz de hacer frente a la variante peligrosa, y el hecho de que la bacteria fuera resistente a uno o más antibióticos haría el tratamiento médico mucho más difícil.

La mayor parte de los hechos principales del debate acerca de la ingeniería genética tuvieron lugar en los Estados Unidos, donde la investigación correspondiente se encontraba, por lo general, más avanzada. Dos hitos fueron las conferencias internacionales celebradas en New Hampshire, en junio de 1973, y en el Asilomar Center (California), en febrero de 1975. Aquellas discusiones condujeron finalmente a trazar las directrices para la investigación en ingeniería genética en aquellos países que contaban con los expertos necesarios para llevarla a cabo y produjeron asimismo la prohibición de realizar determinados tipos de experimentos. No se permitía, por ejemplo, inserir el gen que codifica el cólera en otra bacteria que pueda vivir en el intestino humano.

Las primeras recopilaciones de directrices emanadas de organismos como el National Institute of Health de los Estados Unidos o el Britain's Genetic Manipulation Advisory Group fueron bastante restrictivas. Definían las condiciones de los laboratorios en que se podían realizar determinados tipos de experimentos y, lo más importante, especificaban las precauciones que debían tomarse para prevenir la fuga de microorganismos así como qué tipos de microbios podían emplearse. En 1983, muchas de tales limitaciones se han relajado o abandonado, aunque se mantiene un considerable número de medidas de seguridad. Para entender las bases científicas de este corrimiento hacia la liberalización de las reglas que gobiernan la ingeniería genética, es necesario especificar qué supuestos daños se consideran y qué acciones pueden emprenderse para prevenirlos.

De entrada, deben señalarse dos puntos fundamentales. En primer lugar, que nadie puede argumentar con total honradez que no existe, ni que nunca existirá, peligro alguno en la ingeniería genética. El concepto de riesgo cero es algo virtualmente desprovisto de sentido en cualquier campo de la actividad humana. Incluso el simple acto de respirar entraña el riesgo de inhalar gérmenes y enfermar. La única actitud responsable frente a cualquier nueva tecnología consiste en esforzarse en encontrar todas sus posibles desventajas y sopesarlas en el conjunto de los riesgos cotidianos. Cualquier riesgo extra debe ser aquilatado frente a los beneficios reales o supuestos.

En segundo lugar, las discusiones relativas a la seguridad de la ingeniería genética se centran en la probabilidad de que ocurra un accidente. Hay pocas dudas de que alguien lo suficientemente capacitado y loco al mismo tiempo pueda crear deliberadamente algún nuevo microbio que constituya un peligro para la salud de la humanidad (véase la página 254). Realmente, este problema es distinto del de la regulación de la ingeniería genética en las universidades y en las industrias y resulta difícil de concebir de qué manera una prohibición puede impedir que los conocimientos científicos se usen para fines perversos y destructivos.

De modo que las preguntas a las que han de responder los biotecnólogos están relacionadas con la posibilidad de que ocurran accidentes en la ingeniería genética y sobre sus efectos. Actualmente, la mayoría de los biólogos están de acuerdo en que los riesgos son mínimos por varias razones, que se basan en que un organismo patógeno (que produce una enfermedad) debe poseer varios rasgos característicos y cualquier creación de la ingeniería genética es segura a menos que los contenga todos a la vez. En particular, dicho organismo debe ser capaz de: vivir en el especial

ambiente que supone el cuerpo humano (si se toma el caso particular de las enfermedades humanas); ser transferido de una persona a otra; y de producir de alguna manera síntomas de enfermedad, elaborando quizás alguna sustancia tóxica.

El primer frente de precaución de los especialistas en ingeniería genética es impedir que los microbios escapen de sus laboratorios. Ello puede conllevar encerrar los organismos en cámaras herméticas y la esterilización de todo el utillaje antes y después de su utilización. Los microbiólogos llevan años de experiencia en el manejo de organismos naturales muy peligrosos, como, por ejemplo, los microbios causantes de la viruela o del cólera. Ha habido pocos accidentes y no se conocen casos de expansión de la enfermedad a la población.

A pesar de estos buenos registros de seguridad, la ingeniería genética no trabaja únicamente con estas medidas. Las más importantes medidas de seguridad proceden de lo que se conoce como límites biológicos. Buena parte de la primitiva polémica se suscitó por el hecho de que la mayoría de los experimentos de la ingeniería genética comportaban la utilización de la *E. coli,* lo cual suponía que si la bacteria escapaba del laboratorio podía tener buenas probabilidades de establecerse en el interior del cuerpo humano. Sin embargo, la cepa utilizada más a menudo, la *E. coli* K-12, es una criatura débil, lo cual no sorprende, puesto que se ha cultivado esta bacteria durante muchas generaciones, en condiciones de exuberancia proporcionadas en los laboratorios. El resultado de tales mimos ha sido la producción de una bacteria que muy difícilmente podría vivir si lograra escapar de su confortable ambiente hacia las condiciones mucho más duras que son las que prevalecen en el interior del cuerpo humano. De modo que *E. coli* K-12 está limitada biológicamente de este modo y no puede vivir fuera de un ambiente artificial.

Incluso este grado de debilitamiento de los microbios se consideró insuficiente para la ingeniería genética, con miras a lograr un buen margen de seguridad. En este sentido, los microbiólogos se pusieron a cultivar cepas de *E. coli* que para vivir necesitaran productos químicos raros que no se encuentran en el cuerpo del hombre ni en el de los animales o plantas. Una de tales cepas, creada por Roy Curtiss III en Alabama, es la *E. coli* X1776, llamada así en honor del bicentenario de los Estados Unidos, que para vivir requiere diversos productos químicos raros y es sensible a las sales biliares (presentes en el intestino), los antibióticos y los detergentes. La bacteria de Curtiss ha sido aprobada para su uso en experimentos de ingeniería genética, que especifican que el microbio debe ser, como mínimo, cien millones de veces menos capaz de vivir en la naturaleza que las *E. coli* K-12 normales.

Un factor decisivo para el inicio del debate acerca del ADN recombinante fue la propuesta, hecha a principios del decenio de 1970, de inserir en *E. coli* material genético del virus de SV 40 de macaco. El SV 40 produce cáncer en el ratón y la idea de introducir sus genes en *E. coli* requería obviamente los mayores cuidados. Ello estimuló una serie de experimentos con otros virus, cuyos resultados han tenido profunda influencia en la polémica acerca de los riesgos. El virus del polioma es el virus tumoral más infeccioso conocido para el hámster, y se ha decidido inserir este virus en la *E. coli* y luego inyectar la mezcla en animales. El que ello no produjera tumores indicaba que, una vez en el interior de la bacteria, el virus era mucho menos peligroso que lo sabido.

Las directrices, de 1982, de aplicación en todo tipo de trabajos efectuados en relación con los National Institutes of Health de los Estados Unidos —la principal fuente de ayudas económicas en aquel país— prohibían seis clases principales de experimentos, entre ellos la clonación del ADN de determinados organismos causantes de enfermedades, la clonación de genes que codifican toxinas perjudiciales para los vertebrados y la transferencia de genes para la resistencia a antibióticos en organismos que causen daños al hombre, a los animales o a las plantas.

Actualmente, el clima de la opinión se ha desplazado espectacularmente hacia la aceptación de que la ingeniería genética, y en especial el tipo de ingeniería genética que los científicos esperan realizar, no plantea peligros graves. Indicativa de esta nueva actitud fue la decisión de 1983 del estadounidense Recombinant DNA Advisory Committee de autorizar a los científicos para efectuar experimentos de campo con plantas y microorganismos modificados genéticamente. Una de tales pruebas conlleva el cultivo de plantas de tomate y de tabaco portadoras de genes procedentes de bacterias y levaduras, y otra será la suelta de microbios produ-

cidos por ingeniería genética, cuyas cepas normales producen daños en las hojas y flores de determinados cultivos. Los microbios de la cepa normal, que se encuentra en la naturaleza, actúan como centros, o núcleos, de «formación de hielo», es decir, facilitan la formación de cristales de hielo en la planta. Los microbios se han modificado genéticamente con la pretensión de eliminar esta propiedad de desencadenar la cristalización. La decisión de permitir la suelta de tales microbios fue inmediatamente denunciada ante los tribunales y después de muchos meses de agrios debates públicos y judiciales el caso seguía sin estar resuelto a comienzos de 1985.

La certeza de que los especialistas en ingeniería genética plantearán nuevas propuestas que han de requerir cuidadosas consideraciones hace improbable que desaparezcan las presentes regulaciones. Algunos científicos se sienten gravemente ofendidos por las directrices impuestas por el gobierno, que según ellos se interfieren con su «tradicional derecho» a investigar libremente. Algunos han comparado su situación con el silencio impuesto a Galileo, opinión que resulta difícil de sostener seriamente. El choque de encontrarse por sí mismos en el punto de mira de la atención pública ha alterado profundamente la manera con que muchos biólogos consideran su trabajo y su puesto en la sociedad. Algunos lamentan amargamente que su acción para llamar la atención frente a los imaginables peligros de la ingeniería genética (como lo creían hace diez años) fuera interpretada como la alerta de un inminente desastre. Otros, en cambio, consideran como un mérito que su rectitud y responsabilidad posibilitarán la plena discusión de todo el asunto y evitarán el desencadenamiento de experimentos temerarios.

TRANSGÉNICOS Y TERAPIA GÉNICA

Si las cuestiones sobre la manipulación génica de los microorganismos despertaron una gran polémica en los años 70, la aparición de técnicas de transformación de los organismos superiores abre un nuevo tipo de perspectiva. Debemos partir de la evidencia de que ya es posible manipular el componente genético no únicamente de bacterias o levaduras, sino también de especies vegetales y animales. Pronto sabremos modificar el genoma de cualquier especie biológica, incluida evidentemente la humana. Esta situación plantea interrogantes a muy diferentes niveles.

Uno de ellos es los riesgos, sobre todo ecológicos, que puede comportar el cultivo de plantas transgénicas o el empleo de insectos u hongos modificados genéticamente. La probabilidad de transferencia de genes entre especies muy cercanas es algo que merece la pena ser evaluado. Y también debe evaluarse el sufrimiento que puede producirse en ciertos casos en animales transgénicos. La biotecnología no debe hacerse a cualquier riesgo ni a cualquier precio.

Por otro lado, el éxito de las técnicas de transformación génica ha provocado que se hayan involucrado en ellas un número creciente de empresas. Esto es consecuencia de la gran utilidad para la agricultura que tendrán estas metodologías. Este estado de cosas plantea un tema que es una absoluta novedad en las ciencias de la vida: ¿qué puede patentarse, y quién puede hacerlo? Es comprensible que las empresas deseen proteger la inversión (muy grande en algunos casos) que realizan en investigación. Pero ¿qué hay de invención en el sentido clásico en una secuencia de ADN que ha estado en un animal o una planta durante millones de años? Y, por otro lado, ¿puede considerarse un ser vivo como un mero instrumento mecánico?

Otra cuestión mucho más problemática es la posibilidad de modificar el genoma humano. Ya se han autorizado los primeros experimentos de terapia génica, es decir, de introducción de un gen que funciona correctamente en células en las que su mal funcionamiento produce una enfermedad. Esta autorización se ha dado para enfermedades en las que las células pueden reemplazarse fácilmente en el cuerpo, como las de la sangre o la piel. Es probable que en estos casos la terapia génica llegue a ser moneda corriente.

Un tema mucho más delicado es el de la posible modificación del genoma humano en su línea germinal, es decir, de forma que pueda transmitirse a la descendencia. En este momento, todos los países que se han planteado esta cuestión la han rechazado terminantemente. Las razones de ello son varias. Una de ellas es la peli-

grosidad de cualquier intento de «mejorar» la raza humana. ¿Qué criterios deberían utilizarse? ¿Qué genes se podrían manipular y en qué casos? Otra razón para el rechazo es la impredictibilidad de los resultados. Las técnicas de transformación génica permiten introducir un gen en el genoma de un organismo, pero por el momento, con la excepción de la levadura, no se puede predecir dónde se inserta. Esto presenta el problema de que la expresión final del mensaje que codifica un gen puede variar según dónde se inserte éste, de modo que el resultado final es incierto. En los experimentos con plantas se soluciona el problema analizando centenares o millares de individuos hasta encontrar el que tiene el fenotipo buscado; si se trata de animales también puede hacerse, aunque es más difícil. Pero llevar a cabo este tipo de experimentos en el ser humano sería una aberración completa dado el estado actual de las técnicas empleadas. De todos modos, con el progresivo avance de dichas técnicas y de los conocimientos sobre el genoma humano aparecerán posibilidades cada vez más atractivas de proteger a la descendencia de los peligros de enfermedades como las tumorales o las congénitas. ¿Cuál será la respuesta de la sociedad en esta situación? Lo que está claro es que hay que comenzar a prepararla en los próximos años.

LA BIOTECNOLOGÍA Y LOS MILITARES

La guerra —ya sea presente o futura— ha ejercido una poderosa influencia en la mayoría de los campos de la ciencia y la técnica, y la biotecnología no constituye una excepción. El desarrollo de procesos de fermentación para fabricar productos químicos utilizados en la industria de armamento durante la primera guerra mundial y la producción en gran escala de penicilina durante la segunda guerra mundial son dos ejemplos ya mencionados en capítulos anteriores. Sería ingenuo pensar que las presiones de la industria de «defensa» ya no existen en la actualidad, especialmente si se tiene en cuenta que gran parte de los recursos económicos totales destinados a la investigación se canalizan a través de los militares en todas sus formas.

Puesto que buena parte de estas investigaciones nunca se tratan públicamente, sólo es posible señalar algunos campos en que las consideraciones militares desempeñan un papel importante para el progreso de la investigación biotecnológica. Los observadores han prestado mucha atención a la utilización de la ingeniería genética para armas biológicas. Aunque las armas biológicas están prohibidas por tratados internacionales, la investigación dirigida a proteger al pueblo de sus efectos no está prohibida. La clase de conocimientos necesarios para propósitos eminentemente defensivos es muy similar a la que se requiere para los ofensivos, de modo que es virtualmente imposible distinguir entre ambos a menos que se tenga acceso directo a información secreta y, por tanto, a las mentes de quienes dirigen dicha investigación. Durante 1984 han aparecido en la prensa una serie de historias sensacionalistas acerca de presuntos preparativos de armas biológicas en la Unión Soviética. Muchas de tales «pruebas» parecen tendenciosas. En particular, las revelaciones acerca de los investigadores rusos que estudian toxinas nerviosas procedentes de serpientes y otros organismos pierden mucho de su impacto cuando se cae en la cuenta de que docenas de científicos relacionados con la investigación médica fundamental en occidente están estudiando las mismas sustancias químicas. Existen, sin embargo, pocas dudas de que los militares, tanto en el este como en el oeste, tienen vivo interés en la ingeniería genética y en la biotecnología en general.

Las armas biológicas se han empleado en pequeña escala varias veces en el pasado, por ejemplo, por los japoneses en China. Por diversas razones, las armas biológicas nunca se han usado con profusión; entre las más importantes hay que señalar el que las armas biológicas han sido una manera relativamente burda e ineficaz de guerrear en comparación con las armas explosivas usuales y mucho más si se las compara con el enorme poder destructor de las armas atómicas. La pregunta fundamental que se plantea ahora es: ¿En qué medida los avances en ingeniería genética aumentarán la potencia práctica de las armas biológicas?

El inconveniente más obvio de las armas biológicas, desde el punto de vista militar, en su rasgo inherente de la imposibilidad de controlarlas. Las epidemias tanto pueden afligir a los amigos como a los enemigos. Existen dos modos principales de evitar la devastación de la población agresora y ninguna de las dos parece

muy plausible. La primera consistiría en establecer un programa de inmunización en masa contra el organismo que debe ser soltado. Es improbable que ello pueda hacerse en completo secreto, y el secreto es esencial para impedir un ataque preventivo por parte del enemigo, aunque debería notarse, sin embargo, que la biotecnología está haciendo mucho más fácil la producción de vacunas contra enfermedades raras y mortales. La segunda, y más horrorosa, sería el desarrollo de armas biológicas «específicas racialmente». Cada grupo racial tiene sus propias variaciones genéticas características, algunas de las cuales lo hacen más susceptible que otros grupos de población a determinadas infecciones. Muy poco se sabe acerca de tales diferencias y de sus consecuencias, aunque existe una gran cantidad de variación entre los diversos grupos raciales. Cabe imaginar que las poblaciones relativamente más pequeñas y homogéneas pudieran ser atacadas con cepas de microorganismos especialmente proyectadas, aunque para aquellas poblaciones con diversidad étnica ello sería teóricamente imposible. En este aspecto debe destacarse que tanto la población soviética como la norteamericana están compuestas por muchos grupos raciales. Asimismo se trata de nociones muy especulativas y, como en todo lo que atañe a materias defensivas, los hechos probados son escasos.

Otros dos aspectos del armamento biológico merecen mención especial. Uno es su desarrollo y uso por grupos terroristas, tanto si se trata de grupos independientes o de grupos sostenidos por gobiernos cuyos imperativos morales difieren poco de los de los terroristas. Aquí, el factor decisivo es la relativa economía y sencillez de la construcción de un arma biológica, que no requiere necesariamente la utilización de la ingeniería genética ni de otros aspectos de perfeccionadísima técnica. Unos pocos miles de dólares serían más que suficientes para financiar un ataque en pequeña escala contra una ciudad con armas biológicas.

El segundo aspecto está más directamente relacionado con el poder de las nuevas tecnologías: el uso de armas biológicas para socavar la salud y la estabilidad económica de las naciones, especialmente en el mundo menos desarrollado. Es virtualmente segura la posibilidad de crear microbios vulnerables a la última generación de antibióticos pero resistentes a otros tipos de

antibióticos más antiguos. Dado que buena parte del Tercer Mundo sólo tiene acceso, si es que tiene alguno, a los antibióticos más antiguos, tales microbios podrían devastar sus poblaciones, aunque si alguno de dichos microbios lograra alcanzar las naciones más desarrolladas podría ser fácilmente controlado por medio de los medicamentos más nuevos de que se dispone en tales países.

De modo similar, se podría arruinar la economía de determinados países mediante el ataque a los cultivos o ganados de especial importancia para ellos. Cuba ya ha acusado a los Estados Unidos de acciones similares tras la aparición de brotes epidémicos en las plantaciones de caña de azúcar o entre el ganado porcino, mientras que los Estados Unidos ha acusado a la Unión Soviética de emplear agentes biológicos («lluvia amarilla») en el sudeste asiático. En ningún caso existe prueba concluyente alguna de tales acusaciones, aunque el simple hecho de haberlas planteado resulta elocuente del interés que plantea el tema para los gobiernos.

Los otros dos aspectos de la biotecnología que merecen mención especial, en términos relativos a las armas biológicas, son los biosensores (véase la página 242) y los biochips (véase la página 245). Actualmente, la investigación en ambos está sostenida económicamente por el Ministerio de Defensa de los Estados Unidos, con una asignación de varios millones de dólares anuales, y, sin duda, los correspondientes ministerios de otros países desarrollados muestran similar interés por el asunto.

Los biosensores son especialmente adecuados para la detección de gases tóxicos, algunos de los cuales pueden emplearse como armas químicas. Comparados con los métodos existentes de detección de tales sustancias químicas, los biosensores ofrecen probablemente las ventajas en términos de tamaño, velocidad de respuesta y mayor sensibilidad.

El motivo que mueve la investigación sobre biochips es más descorazonador todavía. Muchos de los componentes metálicos de los chips de silicio usuales podrían sustituirse por biochips obtenidos a partir de materiales biológicos. Una posible consecuencia de esto sería que tales biochips quedarían a salvo de los efectos destructores de los impulsos electromagnéticos generados por las explosiones nucleares. Las perspectivas de poder llegar a ser capaces de construir sistemas de control y dirección que podrían se-

guir actuando durante un holocausto nuclear podrían, obviamente, resultar atractivas para quienes establecen la planificación militar.

Las reacciones frente a tales aspectos de la biotecnología entran claramente en el terreno de las opiniones personales. Quienes las consideran como una derivación torcida y perversa de lo que la ciencia y la técnica deberían hacer se enfrentan con el problema de cómo contrarrestar tales progresos. Los esfuerzos para alterar la opinión política generalizada acerca de la «defensa» son muy importantes, como lo es cualquier invento de controlar la forma en que son dirigidos los científicos en investigación. Existen señales esperanzadoras de que por lo menos algunos grupos de científicos se dan cuenta de estos peligros. La norteamericana National Academy of Science, por ejemplo, rechazó colaborar con la Armada de aquel país cuando recibió la solicitud de ayuda para reconocer «agentes del futuro», término que incluía microbios creados mediante ingeniería genética. La respuesta se refería al «profundo interés acerca de la petición de considerar las defensas frente a los "agentes del futuro"», pero aun aceptando la necesidad de medidas defensivas, consideraba que «una consecuencia natural de tales estudios podría ser la creación de nuevos agentes ofensivos». No es difícil establecer paralelismos entre los biólogos actuales y los físicos nucleares de hace cuarenta años. El que en ninguna parte las armas biológicas no se hayan desarrollado hasta los extremos de las armas nucleares, por lo que respecta a su capacidad destructiva absoluta, quizá deba interpretarse como una señal de que todavía no es demasiado tarde para impedir ulteriores amenazas sobre el género humano antes que como una indicación de que no hay problema alguno.

DATOS GENÉTICOS: USO Y ABUSO

La facultad para descubrir gran cantidad de datos acerca de la constitución genética de los individuos plantea algunas consideraciones éticas profundas. Hay dos preguntas principales: ¿Cómo deberían adquirirse los datos? ¿Cómo deberían usarse?

Las nuevas técnicas de la biotecnología, especialmente las que conllevan la utilización de sondas de ADN, posibilitan el análisis de la constitución genética del hombre en unos términos que resultan imposibles con los viejos métodos que se basan en el estudio de las características de gran número de personas emparentadas. Empieza a ser posible decir si un individuo es portador de determinados genes defectuosos. Durante mucho tiempo, los genetistas se vieron limitados a hablar en términos de probabilidades, ahora empiezan a poder hablar en términos de realidades.

Algunos de los interrogantes arrojados a la palestra son bastante corrientes en términos éticos, pero otros son bastante nuevos y complejos. Los siguientes ejemplos, ordenados según su complejidad creciente, ilustran el tipo de preguntas a las que se debe hacer frente y contestar.

El uso de sondas de ADN para el diagnóstico de enfermedades hereditarias antes de iniciar cualquier terapia eficaz tiene realmente pocas diferencias con otros tipos de pruebas de diagnóstico que la mayoría de las personas están preparadas para aceptar. Un poco más problemático es el uso de análisis genéticos para poder decir a los jóvenes que son portadores de determinados defectos génicos que no presentan consecuencias especialmente graves para ellos, pero que, en cambio, posibilitan que los hijos que vayan a tener estén aquejados de una enfermedad hereditaria. El «consejo genético» es una realidad existente para aquellas personas que se saben, o sospechan, portadoras de determinados defectos genéticos «recesivos». Si una persona con un defecto de esta naturaleza tiene hijos con otra que también posee el mismo defecto genético, entonces cada uno de estos hijos contará con una probabilidad entre cuatro de heredar dos copias del gen defectuoso y estar, en consecuencia, afectado por la enfermedad genética. El consejo genético informa a las personas acerca de los riesgos de tener hijos con defectos genéticos y de sus probables consecuencias, pero la decisión se deja en manos de las personas en cuestión. La principal repercusión de los nuevos métodos de obtención de datos genéticos será el ampliar la gama de posibles enfermedades genéticas que podrán reconocerse, lo cual hará del consejo genético un procedimiento más común. El beneficio obvio es que nacerán menos niños con dichos defectos, pero, al mismo tiempo, más parejas se verán enfrentadas con el dilema de tener o no tener

descendencia o incluso a la posibilidad de pensar en tenerla con otra persona que no sea portadora de los mismos factores de riesgo.

Más complejas son las cuestiones que plantean enfermedades tales como la corea de Huntington. Esta enfermedad sólo se pone de manifiesto a edades intermedias y conduce a un lento declinar de las funciones mentales y finalmente a la muerte. No se conoce remedio alguno contra ella. Actualmente se ha reconocido el gen responsable de esta dolencia, pero, ¿qué hacer con este dato? Es bastante probable que una persona haya tenido hijos antes de la aparición de la enfermedad. ¿Deben analizarse estos hijos para saber si son portadores del gen defectuoso? Entonces, los que no lo tienen podrían tranquilizarse y llevar una vida normal y engendrar hijos sin escrúpulo alguno. Pero cualquier hijo del enfermo que resultara portador del gen sólo oiría que es portador de la enfermedad y que los médicos no pueden hacer virtualmente nada para socorrerle. La esperanza de vivir bajo la amenaza de una enfermedad inexorable en el plazo de diez o veinte años es algo que la mayoría de las personas soportaría mal. De modo que el diagnóstico genético de la corea de Huntington podría tener la ventaja de atemperar el miedo de algunos de los hijos de las personas afectadas mientras que amargaría la existencia que les quedara a los otros. Sin tales pruebas de diagnóstico, todos tendrían una mezcla de temor y de esperanza.

La criba genética de los obreros de determinadas industrias es algo que se está considerando con mucha atención. Parece que determinadas personas son más propensas que otras a contraer enfermedades originadas por determinadas sustancias químicas. Por el momento no se dispone de ejemplos bien conocidos, pero si investigaciones ulteriores muestran que los individuos propensos se pueden conocer mediante criba genética, ¿qué pasará? ¿Podrían ser despedidos estos obreros o quedarse sin seguro? Las personas que se volvieran susceptibles a distintas sustancias químicas, ¿podrían como consecuencia de ello tener dificultades para encontrar trabajo? (El director de la US Oil, Chemical and Atomic Workers International Union ha advertido del peligro de «una subcultura de personas que no se pueden emplear si [la criba genética] se implantara de forma generalizada».) ¿Podrían los patronos reducir sus esfuerzos para eliminar los riesgos si la fuerza del trabajo se revelara comparativamente resistente a determinada enfermedad laboral? Cabe aceptar que las personas con riesgos especiales no deben desempeñar determinadas tareas. No debe permitirse el trabajo de niños en las fábricas y la mayor parte de la gente aceptaría el derecho que ampara a un patrono a rechazar como reparador de chimeneas a una persona que sufre de vértigo. Ahora bien, ¿adónde se quiere ir a parar por este camino?

Quizás el rasgo más preocupante —y más futurístico— del progreso de la genética sea la introducción en gran escala de cribas para numerosos factores en la población general. En la actualidad, sólo pueden reconocerse algunas características genéticas muy específicas, relacionadas la mayor parte de ellas con enfermedades. En el futuro será posible extender este análisis a una gama mucho más amplia de características, tales como, por ejemplo, la probabilidad de morir de muerte prematura producida por algunas enfermedades comunes como el cáncer, la diabetes o un ataque cardiaco, la adecuación para determinadas ocupaciones o la probabilidad de desarrollar enfermedades mentales. No se sabe en qué medida tales acontecimientos dependen de factores hereditarios personales y en qué medida de factores sociales y ambientales. Pero si el componente genético resultara ser importante no se precisa mucha imaginación para prever de qué manera algunas personas clamarían por la realización de pruebas en gran escala en los niños para determinar de qué modo debería ser tratado cada uno. Muchos países prestan ya mucha atención a las «pruebas de inteligencia» en edades tempranas para distribuir a los niños entre los distintos tipos de educación, usualmente más costosa para los situados en la parte superior del abanico. ¿De qué manera reaccionaría la sociedad ante las sugerencias de que un niño que tiene la probabilidad de morir a una edad intermedia afectado por un cáncer o un ataque cardiaco no debería recibir la misma «inversión» en su futuro que sus compañeros más afortunados? ¿Se consideraría adecuada para él una educación y unos cuidados médicos de segunda fila?

Sería alarmista decir que las más horribles de estas posibilidades están a la vuelta de la esquina, pero el progreso en estos campos se tiene que controlar cuidadosamente. La primera necesidad

es, sin lugar a dudas, alguna forma de derecho a la libertad de información: que nadie pueda obtener datos genéticos acerca de los individuos sin que queden claras sus repercusiones.

¿DÓNDE MANARÁN LAS BIORRIQUEZAS?

En el siglo XIX, el descubrimiento de la máquina de vapor impulsó a Gran Bretaña en su camino hacia el dominio de la economía mundial, mientras que el reciente auge meteórico del Japón en el concierto global de las naciones se ha basado en la perfeccionadísima utilización de la microelectrónica. De modo similar, las innovaciones inherentes a la producción en masa han dado un gran impulso al poderío de los Estados Unidos, y Alemania obtiene su inmensa opulencia del progreso de su industria química. Las ventajas económicas de encontrarse entre los primeros en capitalizar las nuevas tecnologías (no necesariamente en inventarlas) son enormes. ¿Qué naciones harán la mayor parte de la revolución bioindustrial? Los Estados Unidos de Norteamérica y el Japón, no precisamente en este orden, ocupan las mejores posiciones para ello. Mientras que los Estados Unidos ocupan un puesto preeminente, aunque ya no el dominio, en lo que respecta a la ingeniería genética, el Japón posee ventaja en el tipo de técnica necesaria para realizar fermentaciones en gran escala, con el 80 % de las patentes en este terreno. Sin embargo, no es todavía demasiado tarde para que Gran Bretaña, Francia, Suiza, la República Federal de Alemania, Dinamarca y otros varios países desarrollados puedan acceder a una parte considerable del pastel. Hay, además, pocas razones para que, si media el compromiso necesario, cierto número de países en vías de desarrollo no puedan obtener mejores rendimientos de aquellos campos de la biotecnología que requieren menor técnica e inversión de capital.

El modelo de inversiones difiere considerablemente entre los Estados Unidos y el Japón. En el primero de dichos países, y especialmente en California y en Massachusetts, se han establecido muchísimas empresas pequeñas durante los últimos diez años, y muchas de ellas tienen considerable número de expertos y reciben una generosa financiación de empresas multinacionales tan dispa-

res como Standard Oil, Dow Chemicals, International Nickel, General Foods y Bendix. Al mismo tiempo, se están canalizando enormes sumas de dinero hacia la investigación fundamental en las universidades y otras instituciones públicas, a menudo como contrapartida a la opción sobre las licencias de explotación del resultado de las investigaciones. Así, por ejemplo, la gigantesca industria química alemana Hoechst planea invertir cincuenta millones de dólares en el laboratorio de biología molecular del Massachusetts General Hospital.

Mientras tanto, en el Japón, el gobierno es el principal promotor de la biotecnología. El Ministerio de Comercio Internacional e Industria invertirá ciento diez millones de dólares durante los próximos diez años para sostener la investigación de los expertos de las firmas industriales especializadas en grandes y complejos procesos de fermentación. Su supremacía biotecnológica queda ampliamente demostrada por su virtual monopolio del comercio mundial de determinados aminoácidos, enzimas y aditivos alimentarios, al tiempo que el Japón tiene más experiencia industrial en trabajo con enzimas fijados que cualquier otra nación. En 1981, la ayuda gubernamental de veinte millones de dólares ayudó a la industria a aumentar sus conocimientos acerca de los anticuerpos monoclonales y de la ingeniería genética, incluida la producción de interferón. El Japón ya devenga más de cincuenta millones de dólares anuales por la explotación de microbios, lo que supone alrededor del cinco por ciento de su producto interior bruto.

En Gran Bretaña el informe Spinks, *Biotechnology*, publicado en 1980, abogaba por una mayor atención para la biotecnología y la respuesta gubernamental fue el ridículo White Paper, que presentaba únicamente inocuas perogrulladas y poco más que subterfugios acerca del papel que la biotecnología debería de ocupar en la formación de vastas y provechosas industrias en los próximos años, aunque más recientemente el mensaje parece haber despertado mayor interés con la ayuda de dieciséis millones de libras esterlinas que el Ministerio de Energía ha concedido a ocho entidades de investigación. Igualmente esperanzadora es la decisión del University Grants Committee, en una época en que casi todos los capítulos de los presupuestos sufren recortes, de destinar dos

mil cuatrocientos millones de libras esterlinas durante 1983-1985 al desarrollo de la biotecnología.

Estimaciones recientes realizadas por la Comunidad Económica Europea indican que Gran Bretaña gasta cuarenta y seis millones de dólares de dinero público en investigación y desarrollo centrados en la biotecnología. Las cifras equivalentes de otros países son: República Federal de Alemania, 36.000.000 de dólares; Francia, 31.000.000 de dólares; Comunidad Económica Europea, 146.000.000 de dólares, frente a los 200.000.000 de dólares de los Estados Unidos y los 50.000.000 de dólares del Japón. Sin embargo, cuando se tienen en cuenta los gastos de investigaciones marginales relacionadas con la biotecnología, el panorama cambia: mientras que las cifras para Gran Bretaña alcanzan sólo los 59.000.000 de dólares, la República Federal de Alemania llega a los 132.000.000 de dólares, y Francia, a los 84.000.000 de dólares, al tiempo que la Comunidad Económica Europea destina al mismo menester 355.000.000 de dólares y los Estados Unidos, 550.000.000 de dólares.

De las más de veinte empresas que en Gran Bretaña explotan los nuevos campos de la biotecnología, Celltech es la mejor establecida. Dicha empresa fue creada por el National Enterprise Board en 1980 y sus patrocinadores financieros incluyen el Prudential Insurance Co. y el Midland Bank. Celltech mantiene estrechas relaciones con el Medical Research Council, que posee algunos de los más prestigiosos laboratorios del mundo. Esta relación ha permitido a Celltech la obtención de su primer producto comercial, un anticuerpo que se adhiere a las moléculas de interferón.

La industria británica invierte en biotecnología bien por medio de centros de investigación especializada asociados a las universidades bien por medio del establecimiento de facilidades para la investigación privada. El crecimiento del interés por la biotecnología queda ejemplificado por el apoyo con que cuenta el nuevo Biocentre de Leicester, que recibe asignaciones de los cerveceros (Whitbread), de los productores de tabaco (Gallaher), de la industria alimentaria (Dalgety-Spillers) y de la ingeniería (John Brown). La investigación y el desarrollo crecen también de manera rápida en el seno de empresas como Imperial Chemical Industries, Shell, Glaxo, Burroughs Wellcome, G. D. Searle y Tate and Lyle, que son tan sólo una muestra de las grandes compañías que persiguen alcanzar un lugar en la biotecnología.

La mayor parte de las reuniones de biotecnólogos de los últimos años han incluido discusiones acerca de la conveniencia del apoyo gubernamental para la investigación y el progreso. En general, los biotecnólogos norteamericanos tienden a pensar que la inversión en investigación y progreso es mejor si se deja en manos de las industrias privadas. Aunque destacan la necesidad de una actitud positiva por parte de sus gobiernos, como, por ejemplo, incentivos sobre los impuestos y libertad frente a legislaciones restrictivas. Existe además una considerable unanimidad sobre la carencia de apoyo a la investigación fundamental en los Estados Unidos, lo que podría minar la privilegiada posición que el país tiene en muchas disciplinas científicas.

Por el contrario, los biotecnólogos de la Europa Occidental y del Japón otorgan mayor importancia a la inversión directa por parte del gobierno en investigación y progreso en biotecnología. Debe señalarse, sin embargo, a pesar de la creencia popular pero equivocada en sentido contrario, que la proporción de investigación y progreso que dedica el gobierno japonés es, en general, menor que en otros países. Sólo el 24 % del total de la investigación y progreso otorgado a todos los campos procede de la administración japonesa, mientras en los Estados Unidos, el porcentaje es del 46 %, del 48 % en Gran Bretaña y del 57 % en Francia. La diferencia fundamental estriba en cómo se gasta el dinero: mientras que en los Estados Unidos y en Gran Bretaña cerca de un tercio de toda la inversión gubernamental en investigación y progreso va a parar a proyectos relacionados con la defensa, en Japón se gasta en este sentido menos del 2 % de aquella asignación.

La prosperidad británica dependerá fundamentalmente de su facultad para establecer industrias punteras en la economía mundial del próximo siglo. Se desperdiciaron, en buena parte, las oportunidades que brindaba el microchip, al tiempo que se perdía la ocasión de ocupar un puesto destacado en la revolución industrial; no existe, sin embargo, razón alguna para pensar que se repetirá la situación por lo que respecta a la biotecnología, en la me-

dida en que puedan revisarse la política y la imaginación de la industria.

BIOTECNOLOGÍA Y TERCER MUNDO

La población de la Tierra puede dividirse de muchas maneras, pero las diferencias más profundas son las que afectan a la salud y al acceso a un tratamiento médico eficaz. Dicho llanamente, los habitantes del Tercer Mundo mueren más jóvenes, con mayor dolor y de distintas enfermedades que los habitantes de los países ricos. En buena parte de Asia, África, América Central y Sudamérica, las infecciones y las enfermedades parasitarias son todavía boyantes. Millones de personas enferman anualmente de cólera, malaria, enfermedad del sueño y un horroroso conjunto de otras enfermedades debilitantes y mortales. La biotecnología, tal como se ha visto, podría hacer mucho para reducir el azote que suponen tales enfermedades, pero ¿se cuenta con el necesario compromiso para ello? Si hay que proyectar nuevas vacunas y nuevas terapias, debería asignarse mayor preferencia a dichos lugares. El norteamericano Institute of Medicine calcula que la investigación contra el cáncer en aquel país recibe 209 dólares anuales por cada caso declarado de dicha enfermedad, siendo la cifra correspondiente para las enfermedades cardiovasculares de 8 dólares por caso. Las cifras equivalentes para la esquistosomiasis y la malaria son, respectivamente, de 4,5 y 2 centavos de dólar.

La creación de un nuevo medicamento puede llevar años y costar millones de pesetas. Cuando una sustancia se muestra, en potencia, prometedora en los experimentos de laboratorio, se debe tomar la decisión acerca de si se inicia la parte del trabajo que consume mayor tiempo y dinero: la comprobación de sus efectos en animales y, finalmente, en personas voluntarias. Incluso las mayores compañías farmacéuticas sólo pueden seguir algunas de las directrices apuntadas por sus científicos e investigadores. Entre los muchos criterios que se tienen en cuenta para tomar la decisión de continuar o interrumpir la creación de un posible medicamento, hay uno que juega fuertemente en contra del Tercer Mundo: la potencial rentabilidad del producto. Hay pocos incentivos en la investigación de un producto que haya de tener sus mayores mercados en países escasos de dinero. Puesto que la mayoría de las empresas están sometidas a la obligación estatutaria de actuar en interés de sus accionistas, es improbable que la situación vaya a cambiar.

Un inquietante ejemplo de las tensiones que se suscitan entre el beneficio y la preocupación por la salud pública se basa en las investigaciones realizadas en la producción de una vacuna para la malaria. El trabajo realizado en la Universidad de Nueva York fue parcialmente financiado por la Organización Mundial de la Salud, la cual, como es obvio, exige que el resultado de la investigación sea público. La empresa californiana de biotecnología Genentech tenía gran interés en colaborar en el desarrollo de la vacuna, pero cuando quedó claro que no iba a recibir una patente en exclusiva para la vacuna, menguó su interés al tiempo que expresaba dudas acerca del futuro técnico del proyecto. Los intentos para sustituir dicha empresa por otra igualmente bien equipada y que contase con expertos como Genentech han sido, hasta el momento, infructuosos.

Así, para que el Tercer Mundo se pueda beneficiar de las oportunidades que ofrece la biotecnología contra las enfermedades infecciosas o parasitarias es preciso encontrar una solución financiera. La Organización Mundial de la Salud y otras instituciones internacionales tienen laboratorios de investigación, pero existe la urgente necesidad de potenciar el desarrollo de nuevas posibilidades de investigación y comprobación no lucrativas al tiempo que se aumentan los esfuerzos dedicados a la investigación fundamental.

En 1984, la Organización para el Desarrollo Industrial de las Naciones Unidas (UNIDO) anunció la puesta en funcionamiento de dos centros internacionales de investigación en biotecnología, uno en Trieste (Italia) y otro en Delhi (India). Con un presupuesto para cinco años de cuarenta millones de dólares, estos centros atenderán aquellos problemas que revisten particular importancia para los países en vías de desarrollo. En el campo de la medicina, las necesidades más urgentes se relacionan con la ulterior investigación de numerosos descubrimientos ya realizados en centros de investigación universitarios, con vistas a su aplicación en procedi-

mientos prácticos que puedan transformar la calidad y la duración de la vida de millones de personas. Aunque en el presente sistema las compañías farmacéuticas pueden no encontrar alicientes que justifiquen inversiones directas para la prosecución del trabajo, pueden sentirse estimuladas a facilitar información sobre proyectos que consideren no viables comercialmente pero de posible valor médico. No se trata de una proposición irreal, tal como a primera vista podría parecer. Las compañías farmacéuticas se preocupan mucho de su prestigio, y la posibilidad de ser consideradas como beneficiosas para el Tercer Mundo, sin considerables gastos extraordinarios, les puede resultar atractiva.

El enorme gasto que supone la realización de las pruebas exigidas por los gobiernos constituye otro factor que obstaculiza la creación de muchos tipos de medicamentos. Las regulaciones tienen poco en cuenta la naturaleza y la extensión de la enfermedad de que se trata en cada caso al estipular las pruebas requeridas y las medidas de seguridad necesarias. Ciertamente, cualquier medicamento que trata de aliviar una enfermedad relativamente menor debe soportar las más duras pruebas antes de ser autorizado para su uso general, especialmente si otros tratamientos ya se encuentran disponibles. Pero cuando se consideran, sin embargo, las enfermedades más comunes y mortales —y no sólo aquellas que afligen a las naciones en vías de desarrollo— el equilibrio de los riesgos frente a los beneficios es muy distinto. Si los controles gubernamentales son tales que ninguna empresa comercial encuentra rentable la investigación y el progreso, se habrá eliminado ciertamente el peligro que presentan los fármacos no seguros porque no existirá ningún medicamento nuevo.

Cualquier debilitamiento de las reglas que gobiernan la industria farmacéutica comercial puede ser políticamente inaceptable, en especial si de ello se desprende la aceptación, para determinados tipos de pacientes, de pruebas de seguridad de «segunda clase». Sin embargo, la existencia de una organización de investigación internacional no lucrativa podría acelerar la introducción de algunos medicamentos nuevos, ya que los beneficios médicos y los riesgos serían los principales factores que se deberían tener en cuenta a la hora de tomar las decisiones prescindiendo por completo de las consideraciones económicas relativas a las ventas.

Importa señalar que cuando se habla de «seguridad» de los medicamentos se refiere a algo relativo. Ningún medicamento es absolutamente seguro en el sentido de que nunca pueda producir algún tipo de efectos secundarios indeseables en los pacientes. Todo el mundo tiene derecho a exigir que los medicamentos puestos en el mercado hayan sido sometidos a todos los controles impuestos por las disposiciones gubernamentales y a que cualquier efecto adverso que posteriormente pudiera aparecer se investigue con prontitud y a fondo. No es realista, en cambio, insistir en que se tiene que suprimir cualquier efecto secundario a menos que se pretenda, simple suposición, detener todo trabajo sobre nuevas medicinas y retirar todas las existentes.

El hambre que asoló extensas regiones de África en 1984 y en 1985 ha vuelto a poner de manifiesto los terribles sufrimientos que todavía padece la humanidad a causa de la carestía de alimentos. Si pudieran reducirse las pérdidas en los cultivos debidas a la destrucción por plagas —tanto en el Tercer Mundo como en cualquier otro lugar— se dispondría de muchos más alimentos (aunque no se podría garantizar que los excedentes de alimentos de determinadas regiones pudieran llegar a quienes carecen de ellos).

Muchos investigadores de la industria y de las universidades están trabajando en métodos de disminuir las pérdidas por plagas, pero ¿es éste el enfoque que puede producir mayores beneficios directos a la población mundial hambrienta? En el caso de buena parte de la investigación financiada por la industria, la respuesta parece ser negativa. En este campo hay dos estrategias posibles: una consiste en intentar la obtención de cultivos que puedan resistir determinadas plagas, mientras que la otra se cifra en crear cultivos resistentes a los plaguicidas, en cuyo caso es posible emplear poderosos plaguicidas para matar las malas hierbas y otros organismos nocivos sin dañar los cultivos.

Desde el punto de vista comercial, quizá la segunda estrategia sea más provechosa para las compañías agroquímicas, ya que pueden aumentar sus ganancias tanto con las ventas de las semillas resistentes a los plaguicidas como con las de los propios plaguicidas.

A corto plazo, la investigación sobre plantas resistentes a los plaguicidas puede ser mejor apuesta en términos de aumento de

producción de alimentos (y también de aumento de beneficios) que la investigación sobre cultivos resistentes. Pero, a largo plazo, deberían prevalecer las ventajas agrícolas y ambientales de la eliminación de la necesidad de plaguicidas.

La Office of Technology Assessment de los Estados Unidos estima que a finales de siglo la biotecnología podrá proporcionar el 20 % de las necesidades mundiales de energía. Si este objetivo se consigue, el alcohol como combustible habrá desempeñado en ello un papel fundamental, probablemente dominante. Las principales materias primas consumidas durante la producción de alcohol destinado a combustible —en particular la caña de azúcar y el trigo— se utilizan normalmente como alimento. ¿Significará la producción de más combustible para los ricos menos alimento para los pobres? Al menos hasta que se disponga de métodos eficaces para utilizar madera y materias vegetales ricas en celulosa para la obtención de alcohol como combustible, la pregunta seguirá siendo válida. En 1982, el gobierno de Kenia retiró su apoyo a los programas de alcohol como combustible cuando descubrió que crecían sus importaciones de alimentos para sustituir a la producción agrícola propia que se desviaba hacia la nueva industria. Los países deberían ser muy cautos al dirigir su agricultura hacia cultivos que puedan producir alcohol destinado a combustible. Por desgracia, la tentación es muy grande para aquellos países en vías de desarrollo que necesitan desesperadamente divisas.

Uno de los mayores problemas económicos globales que se verán afectados por la revolución bioindustrial está relacionado con la caña de azúcar, que constituye uno de los principales apoyos de la economía de muchos países, especialmente en la zona del Caribe. El aumento de la utilización del alcohol como combustible puede aumentar la demanda de caña de azúcar, pero el crecimiento del mercado de otros edulcorantes, entre ellos la fructosa y el aspartamo, puede reducir los precios. La repercusión total de estas fuerzas contrapuestas sólo puede intuirse, pero, a corto plazo, las economías ya de por sí inestables de las naciones productoras de azúcar de caña pueden verse más debilitadas todavía.

La interacción de otros campos de la biotecnología resulta incluso más difícil de prever. Los expertos en economía de los distintos países, especialmente los del Tercer Mundo, deben tener en

cuenta los probables efectos de, por ejemplo, sus necesidades energéticas. El metano obtenido a partir de residuos puede frenar las importaciones mientras que, a largo plazo, la producción de hidrógeno a partir del agua tendrá el mismo efecto. Sin embargo, el descenso de la tasa de mortalidad gracias a las nuevas medicinas incrementará la población y con ello sus demandas de energía, ya que los nuevos habitantes también necesitarán comer. La desviación de cultivos hacia la producción de alcohol como combustible puede exacerbar la carestía de alimentos, aunque la posibilidad de nuevos cultivos en suelos anteriormente inviables puede tener efectos opuestos. Las fábricas de proteína unicelular puede que consuman alimentos vegetales, pero producirán alimentos más nutritivos para los animales domésticos o, preferiblemente, para las personas.

EL CIENTÍFICO COMO EMPRESARIO

Cuando los biólogos no se habían repuesto todavía del choque producido por el debate acerca de la ingeniería genética, se han visto involucrados en otra controversia: la de la relación entre universidades e industria. Muy poco del vasto potencial comercial de las nuevas biotecnologías habría sido posible sin el trabajo fundamental realizado en las universidades y otras instituciones de investigación financiadas públicamente. Hasta hace muy poco tiempo, virtualmente cualquier descubrimiento importante en ingeniería genética y en la producción de anticuerpos monoclonales estuvo apoyado por los contribuyentes o por donaciones. ¿Quién obtendrá, probablemente, los beneficios financieros que se derivarán de la comercialización de los nuevos conocimientos? En muchos casos, la respuesta está cada vez más clara: un sector creciente de científicos de primera fila deja las universidades para fundar empresas comerciales, cuyos principales activos son los conocimientos y la destreza de sus investigadores, conocimientos y destreza obtenidos en buena medida durante años de trabajo financiado con dinero público. La controversia ha aumentado, si cabe, porque algunos biólogos han continuado manteniendo sus puestos en la universidad mientras ocupan también plaza en las nuevas compañías.

Esta tendencia ha sido particularmente notoria en los Estados Unidos, donde la mayoría de las nuevas firmas biotecnológicas están dirigidas, en sus escalafones científicos superiores, por personas que sólo un año antes dirigían los principales laboratorios de las mejores universidades del país. La oportunidad de las diversas soluciones del problema, o incluso la consideración del asunto como un verdadero problema, dependen, en buena medida, del punto de vista político del observador.

Aquellos que se muestran favorables al presente estado de cosas, en que los científicos se mueven desde las universidades a la industria, tienen argumentos convincentes. La biotecnología es la aplicación de la biología en un marco industrial y, arguyen, si no se diera el movimiento de científicos desde la investigación fundamental hacia proyectos aplicados a operaciones comerciales, entonces no se realizarían plenamente las posibilidades de la biotecnología. Hay, ciertamente, pocos motivos para pensar que las universidades tienen la tendencia o la facultad necesaria para proyectar y comercializar productos surgidos de las investigaciones efectuadas en sus laboratorios. Arguyen también que los científicos deben tener los mismos derechos que cualquiera para sacar el máximo beneficio material de su trabajo (o de sus conocimientos) en un mercado libre. Además, si el intercambio de científicos entre la universidad y la industria estimula el desarrollo de nuevas industrias basadas en la biotecnología, todo el mundo ganará mediante mejor medicina, más alimentos, mayores disponibilidades energéticas y todos los demás beneficios que se ofrecerán. Hacen notar, finalmente, que si bien tales cuestiones resultan nuevas para los biólogos como grupo, otros tipos de científicos —los químicos, por ejemplo— tienen desde hace años estrechas relaciones con las principales industrias y no hay pruebas de que tales relaciones hayan tenido, por lo general, consecuencias adversas.

Los razonamientos de quienes piensan que el presente estado de cosas no es más que la degeneración de un sistema de libertades, utilizan argumentos generalmente más complejos, aunque no menos importantes. En un caso extremo —que probablemente nunca ocurra en la práctica— la mayoría de los mejores biotecnólogos podrían sentirse atraídos por la industria en la que las exigencias comerciales les asegurarían que sus esfuerzos se dedicarían a programas muy rentables, que a menudo podrían no ser las más útiles socialmente hablando (y bien conocidas) aplicaciones de la biotecnología. Podría suceder que se dedicaran más esfuerzos, dentro del campo farmacéutico, a la búsqueda de un medicamento para el resfriado que a la terapia de la lepra. Y es que el deseo de rentabilidad puede tener repercusiones sorprendentes. El norteamericano Office of Technology Assessment ha hecho notar, por ejemplo, que «hasta recientemente las compañías comerciales norteamericanas de producción y venta de semillas no han tenido interés, salvo una o dos excepciones, en los programas de producción de nuevas variedades de trigo, por considerarlos desprovistos de rentabilidad potencial». La razón estriba en que el agricultor necesita sólo cierta cantidad de semilla, ya que una vez plantada guarda parte de la cosecha para utilizarla como semilla de la siguiente, y ventas únicas no son rentables. En consecuencia, la creación de variedades de trigo de elevada producción se ha realizado principalmente mediante programas de investigación financiados con dinero público. La completa desconsideración de aquellas investigaciones importantes desde el punto de vista económico pero no rentables, constituye un peligro real si el progreso de la biotecnología queda casi totalmente en manos de las firmas comerciales.

Dentro de las universidades, los debates más activos y a menudo más agrios se refieren a la distorsión de los valores académicos tradicionales de libre circulación de la información y libertad de investigación. Estas cuestiones están en el mismo corazón de la actividad científica: que, en realidad, es la actividad que ha permitido la aparición de la biotecnología.

Las tensiones creadas por aquellos científicos universitarios que a su vez tienen estrechas relaciones con empresas comerciales han sido especialmente graves en determinadas universidades norteamericanas. Los profundos lazos existentes entre Genentech, firma de ingeniería genética, y la dirección del Department of Biochemistry and Biophysics de la Universidad de California (San Francisco) han causado muchas tensiones. Un comité investigador señalaba que algunos científicos entrevistados «pensaban que la manera como se había llevado el contrato particular (con Genentech) produjo serias tensiones en el seno del Departamen-

to. Un tema recurrente era que la gente se mostraba poco dispuesta a contestar a preguntas o a hacer sugerencias en clases y seminarios por el temor de que alguien pudiera coger alguna idea y patentarla o que alguna idea pudiera ser aprovechada por alguien para ganar dinero». También predecía graves problemas en el caso de que más de una firma estableciera relaciones con miembros de un mismo departamento. Posteriormente, miembros de aquel departamento dirigieron tres compañías distintas que competían entre sí.

El empeoramiento de las relaciones como consecuencia de aquellas relaciones ha constituido una influencia perniciosa durante los últimos años. En los Estados Unidos en particular, las universidades buscan frenéticamente la manera de poder retener sus científicos y su prestigio. Constantemente se proponen complejos tratos y negociaciones con la finalidad de obtener el financiamiento de la industria, preservar para la universidad los beneficios derivados de las patentes que puedan surgir de su trabajo y liberar a los equipos dirigentes de la presión que supone trabajar en proyectos cuya finalidad es la rentabilidad económica a corto plazo. El conflicto entre los valores tradicionales de la universidad y la investigación industrial es ciertamente complejo. Están, por un lado, los ideales de libre circulación de la información y la comunicación así como la libertad para proseguir los estudios por su interés intrínseco; por el otro, la necesidad de guardar secretos y de dedicar el precioso tiempo y dinero únicamente a aquellas investigaciones que prometen ser rentables.

¿UN ELDORADO GENÉTICO?

En octubre de 1980, las acciones de Genentech, compañía con sólo algunos empleados y sin productos, se ofrecieron al público. Wall Street se conmovió tanto por la biotecnología que sólo veinte minutos después de haber empezado a cotizar, el precio de las acciones de aquella aparentemente tan poco atractiva compañía se habían disparado desde los 35 hasta los 89 dólares. En el punto cumbre del noviazgo entre el negocio del mercado de reservas y la biotecnología, la simple sospecha de la clonación de un gen precipitaba a los inversores hacia sus corredores de bolsa aun cuando unos y otros desconocían la viabilidad comercial de aquella última maravilla de la ciencia. Las posteriores ofertas de acciones fueron recibidas con una acogida sólo ligeramente inferior a medida que otras firmas biotecnológicas entraban en el negocio del mercado de reservas de los Estados Unidos. En Gran Bretaña, la demanda de acciones de Amersham International, compañía que suministra buena parte de las sustancias químicas utilizadas por los especialistas en ingeniería genética, ha excedido con holgura las expectativas de los expertos financieros del gobierno cuando se decidió invitar a la inversión privada a participar en una firma que hasta entonces había sido exclusivamente pública.

La carrera para obtener una plaza en la biotecnología ha hecho millonarios a varios científicos, que han levantado pequeñas compañías de alta tecnología. Como era de prever, se ha producido un retraimiento entre los inversores a medida que han comprobado que las fortunas, en productos biotecnológicos, no se hacían en una noche. Las cotizaciones de las acciones han bajado, pero continúan estando en posiciones notablemente altas si se comparan con las de las principales compañías que han establecido marcas de rentabilidad en el transcurso de los años. La mayoría de las personas relacionadas con la biotecnología consideran deseable este retraimiento, puesto que si la «bioburbuja» hubiera continuado hinchándose, su final e inevitable estallido habría sido desastroso para la industria, y destruido consigo la valiosa y necesaria confianza en su futuro.

Docenas de pequeñas firmas biotecnológicas están en la contienda para producir microbios por ingeniería genética capaces de producir proteínas valiosas. Algunas caerán en los próximos años y varias ya están con el agua al cuello, al tiempo que las más boyantes es probable que sean absorbidas por las compañías gigantes actuales puesto que han de resolver los problemas técnicos fundamentales para producir nuevos materiales y requieren grandes inversiones de capital para sus instalaciones de producción. Son difíciles de predecir las repercusiones de todo ello sobre el empleo.

La revolución bioindustrial está creando gran demanda de científicos e ingenieros especializados en ingeniería genética, tec-

nología de la fermentación, microbiología y otras muchas especialidades. En algunos campos, la falta de personal preparado empieza a ser grave y aquellos que poseen la cualificación necesaria pueden recibir salarios superiores a los que se podían imaginar sólo diez años atrás. Los gobiernos y las universidades de todo el mundo desarrollado intentan con urgencia aumentar el grado de educación en aquellas disciplinas que sostienen la biotecnología. Únicamente en Gran Bretaña, alrededor de una docena de nuevos cursos se han establecido en universidades y colegios a los cuales seguirán, con toda probabilidad, otros. De modo que, para quienes sean capaces de seguir esta carrera, las perspectivas de empleo resultan muy brillantes.

La Office of Technology Assessment estimaba que en 1984 había unas cinco mil personas dedicadas a la investigación y progreso en biotecnología en los Estados Unidos, mientras que el Institute of Manpower Studies estimaba esta cifra, para Gran Bretaña, entre mil quinientas y dos mil personas. (El problema de definir qué es un «biotecnólogo» dificulta mucho comparar las cifras procedentes de distintas fuentes.) Se crearán, sin duda, nuevas ocupaciones en los campos científicos y técnico de la biotecnología, y aunque las cifras no serán grandes en comparación con el empleo general, quizá se necesitarán unas quinientas personas al año en Gran Bretaña, mientras que una estimación del empleo total en la industria de la «genética sintética» de los Estados Unidos para 1992 es de unos cuarenta mil puestos de trabajo.

Los efectos del progreso de la biotecnología en el empleo global son mucho menos claros y no se han realizado hasta el momento estimaciones que abarquen su repercusión. Así, por ejemplo, la Office of Technology Assessment sugiere que en los Estados Unidos se necesitarán de 30.000 a 75.000 obreros para producir productos químicos a partir de microbios obtenidos por ingeniería genética, por valor de catorce mil seiscientos millones de dólares. Puesto que los productos que se consideran ya los fabrican las industrias químicas, ello puede suponer, claramente, la pérdida de puestos de trabajo en las industrias más tradicionales. Una valoración algo imprecisa considera que se puede originar una pérdida, o una ganancia muy pequeña, de puestos de trabajo como consecuencia del desplazamiento hacia la biotecnología.

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) sostiene un punto de vista similar reflejado en su informe de 1982, al señalar que el crecimiento de la biotecnología puede, a corto plazo, no afectar mucho al empleo total. Sin embargo, en un futuro mucho más lejano, es posible adivinar la creación de más puestos de trabajo a medida que la biotecnología vaya produciendo sustancias totalmente nuevas en lugar de las sustituciones, directas o indirectas, de métodos de fabricación de productos ya existentes anteriormente.

¿HACIA UNA ECONOMÍA MUNDIAL MÁS ESTABLE?

Desde la revolución industrial, la economía mundial se ha caracterizado por el constante incremento de la demanda de energía y metales. Hasta el presente, la demanda de energía ha sido satisfecha principalmente mediante la explotación de los combustibles fósiles, mientras que la aportación de los metales proviene del hallazgo de técnicas mineras cada vez más perfeccionadas. Todo el mundo sabe que continuar por esta senda tiene un límite, aunque se actúe la mayor parte del tiempo como si tal límite no existiera. Cuando en el futuro la gente vuelva la vista atrás hacia la revolución bioindustrial de finales del siglo XV y principios del XXI podrá ver, quizá, como su principal contribución ha sido la transformación de la sociedad desde una basada en materiales no renovables y, por tanto, inherentemente inestable, hacia otra fundamentada ampliamente en una fuente de energía que estará con nosotros durante millones de años: el Sol.

En el próximo siglo, los plásticos obtenidos a partir de organismos vivos podrán realizar muchas de las funciones que actualmente desempeñan los metales. Puesto que todos los organismos funcionan, en realidad, con energía solar, cabe esperar un suministro virtualmente ilimitado de tales materiales. Cualquier necesidad de metales podrá resolverse mediante las técnicas de minería microbiológica y, lo más importante, por la utilización de microorganismos capaces de reciclar los metales que ya han sido extraídos de la Tierra mediante los métodos de la minería tradicional.

De modo similar, las necesidades humanas de energía podrían

derivarse de la energía solar mediante la utilización de vegetales para elaborar alcohol y del metano producido por los generadores que funcionan con residuos. Si se pudieran fabricar generadores funcionales de hidrógeno con una eficiencia del 10 %, es decir, que fueran capaces de convertir el 10 % de la energía solar en energía almacenada en el hidrógeno gaseoso, bastaría con una superficie de 500.000 kilómetros cuadrados de tales generadores para satisfacer todas las necesidades energéticas mundiales del presente. Esta zona equivale a sólo el 7 % de la superficie de Australia.

Se trata de ideas grandiosas, pero nadie que haya sido testigo de la velocidad con que ha progresado la biotecnología durante este último decenio podrá sentirse seguro descartándolas como si no fueran más que sutiles e irreales fantasías de un fumador de opio.

EX LIBRIS Scan Digit



The Doctor

23 JUN 1995







No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología S. Prentis

16





Biotecnología

Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca Científica Salvat

No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología S. Prentis

16

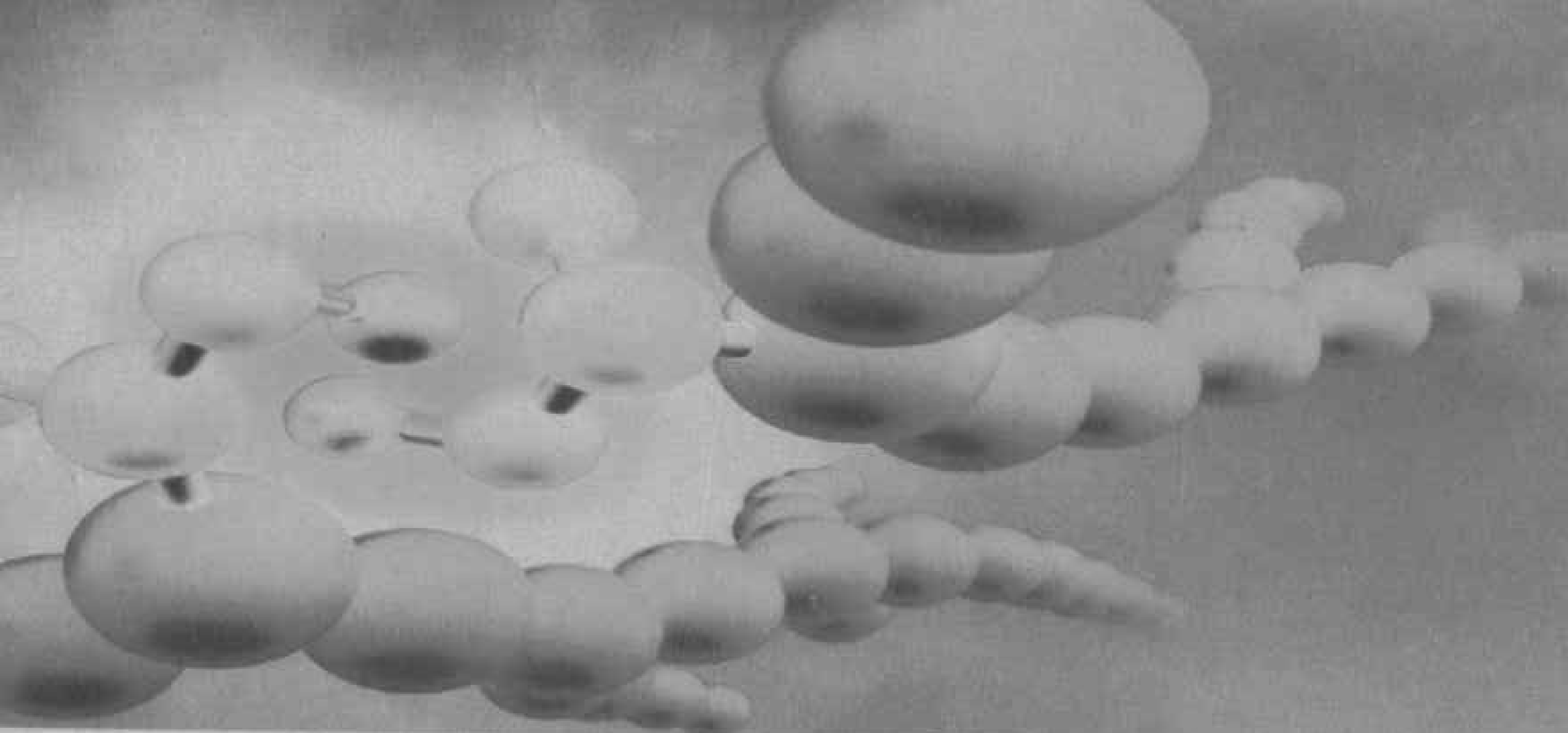


Biotecnología

Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca
Científica
Salvat



No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

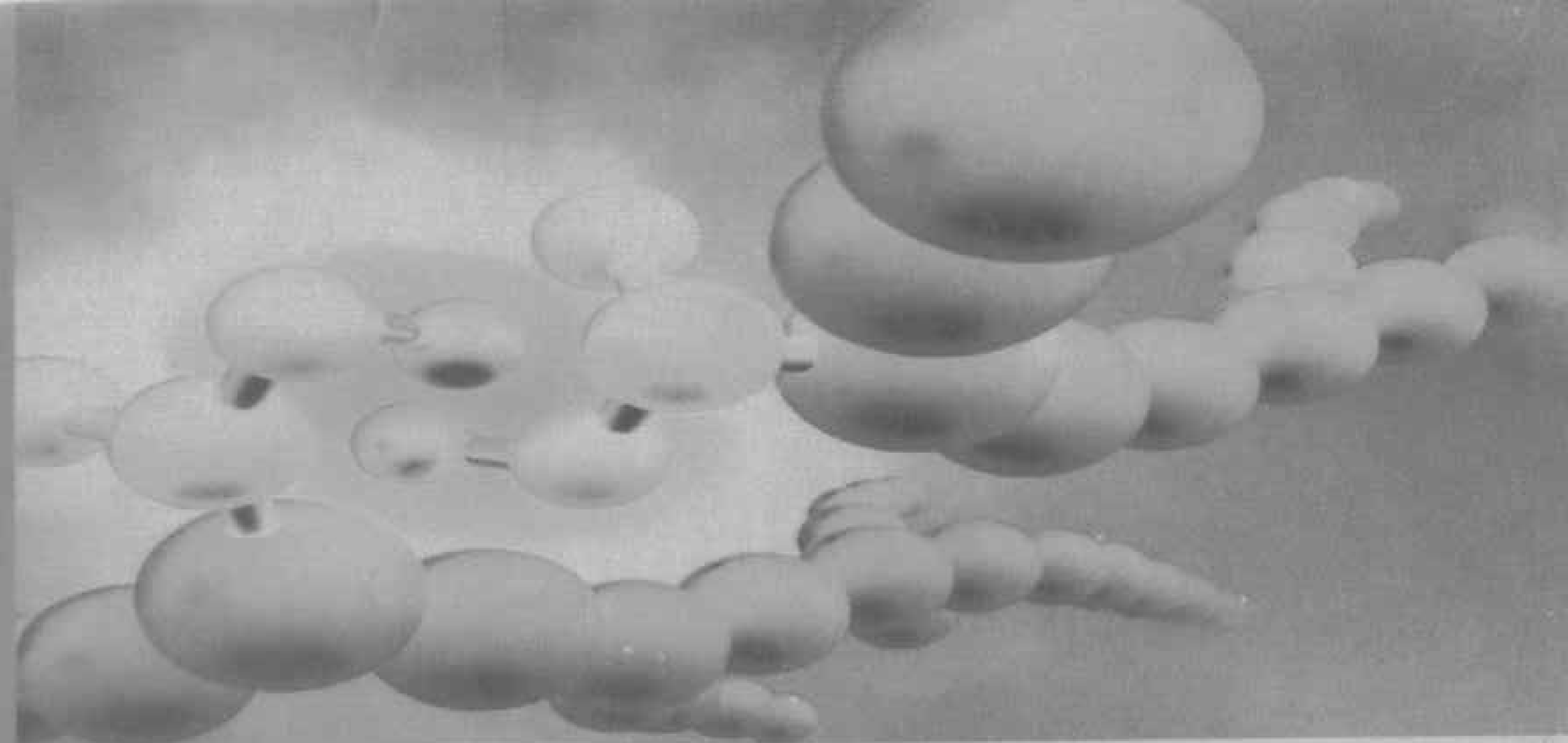
Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología

S. Prentis

16





Biotecnología

Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca Científica Salvat

No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología



Biotecnología
Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca Científica Salvat

No hace muchos años que la biotecnología ha rebasado el ámbito de los laboratorios de investigación y nos ha conducido a las puertas de una nueva revolución industrial. Mediante manipulaciones en los microorganismos, los biotecnólogos pueden ya producir a escala industrial antibióticos, hormonas, vacunas y otras sustancias orgánicas insólitas. También han obtenido ratones que crecen el doble que los normales, vacas que producen más leche y tomates que no se pudren al madurar. Y en el campo de la medicina se están efectuando ya los primeros ensayos para sustituir en células humanas genes defectuosos por otros "sanos".
En este libro se explican con claridad y rigor las principales técnicas que permiten conseguir estos asombrosos resultados, así como las perspectivas futuras de esta nueva rama de la ciencia aplicada.

Steve Prentis era un reconocido especialista en la divulgación de temas relacionados con la biotecnología, la ingeniería genética y la biología molecular, y dirigía la revista científica *Trends in Genetics*. Su muerte prematura le impidió concluir la tercera edición de este libro, que ha sido actualizada por Pere Puigdomènech Rosell, profesor investigador del CSIC, y Luis Ruiz Ávila, profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

Biotecnología



Biotecnología
Una nueva revolución industrial

Steve Prentis

Biblioteca Científica Salvat